

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-245677

(43)Date of publication of application : 11.09.2001

(51)Int.Cl.

C12N 15/09  
C12M 1/00  
C12Q 1/68  
G01N 33/53  
G01N 33/566  
G01N 33/569  
//(C12Q 1/68  
C12R 1:42 )  
(C12Q 1/68  
C12R 1:01 )

(21)Application number : 2000-398087

(71)Applicant : SRL INC  
MARINE BIOTECHNOL INST CO LTD  
NIPPON GENE CO LTD

(22)Date of filing : 27.12.2000

(72)Inventor : FUKUSHIMA MASAO  
KAKINUMA KENICHI  
KAWAGUCHI RYUJI

(30)Priority

Priority number : 11368920 Priority date : 27.12.1999 Priority country : JP

(54) NUCLEIC ACID FOR ASSAYING BACTERIA BELONGING TO THE GENUS SHIGELLA OR SALMONELLA AND METHOD FOR DETECTING THE BACTERIA

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a means for discriminating *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella chester*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella oranienburg* by a gene test to assay.

SOLUTION: This means for discriminately assaying the above nine kinds of bacteria is provided by using a section which consists of a base sequence in the specific domain of gyrase  $\beta$  gene(*gyr*  $\beta$ ) consisting of the structural gene of the  $\beta$ -subunit in these bacterial enzyme topoisomerase II and contains the different base sequence due to each bacterial species as a primer or a probe.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2001-245677  
(P2001-245677A)

(43) 公開日 平成13年9月11日 (2001.9.11)

| (51) Int.Cl. <sup>7</sup>            | 識別記号  | F I           | テマコード <sup>*</sup> (参考) |
|--------------------------------------|-------|---------------|-------------------------|
| C 1 2 N 15/09                        | Z N A | C 1 2 M 1/00  | A                       |
|                                      |       | C 1 2 Q 1/68  | A                       |
| C 1 2 M 1/00                         |       | G 0 1 N 33/53 | M                       |
| C 1 2 Q 1/68                         |       | 33/566        |                         |
| G 0 1 N 33/53                        |       | 33/569        | F                       |
| 審査請求 未請求 請求項の数29 O L (全 40 頁) 最終頁に続く |       |               |                         |

(21) 出願番号 特願2000-398087 (P2000-398087)

(22) 出願日 平成12年12月27日 (2000. 12. 27)

(31) 優先権主張番号 特願平11-368920

(32) 優先日 平成11年12月27日 (1999. 12. 27)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 390037006

株式会社エスアールエル

東京都立川市曙町二丁目41番19号

(71) 出願人 591001949

株式会社海洋バイオテクノロジー研究所

東京都文京区本郷1丁目28番10号

(71) 出願人 000135162

株式会社ニッポンジーン

東京都千代田区神田錦町一丁目5番地 金

剛錦町ビル

(74) 代理人 100088546

弁理士 谷川 英次郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シゲラ属又はサルモネラ属細菌の測定用核酸及び検出方法

(57) 【要約】

【課題】 遺伝子検査により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグを識別して測定する手段を提供すること。

【解決手段】 これらの細菌の酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子 (gyrB) の特定の領域の塩基配列であって、各菌種によって塩基配列が異なっている部分をプライマー又はプローブとして用いることにより、上記9種類の菌を識別的に測定する手段を提供した。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列表の配列番号 1 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 2 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・フレクスネリ測定用核酸。

【請求項 2】 配列表の配列番号 2 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 又は 3 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ボイディ測定用核酸。

【請求項 3】 配列表の配列番号 3 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 若しくは 2 又は 4 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ゾネイ測定用核酸。

【請求項 4】 配列表の配列番号 4 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 3 又は 5 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィ測定用核酸。

【請求項 5】 配列表の配列番号 5 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 4 又は 6 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・パラチフィ A 測定用核酸。

【請求項 6】 配列表の配列番号 6 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 5 又は 7 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィウム測定用核酸。

【請求項 7】 配列表の配列番号 7 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 6 又は 8 若しくは 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チェスター測定用核酸。

【請求項 8】 配列表の配列番号 8 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 7 又は 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの

対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・エンテリティディス測定用核酸。

【請求項 9】 配列表の配列番号 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 8 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・オラニエンバーグ測定用核酸。

【請求項 10】 配列表の配列番号 20 ないし 29 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に前記断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 11】 塩基数が 8～50 である請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 12】 核酸増幅用プライマーである請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 13】 フォワード側プライマーであり、前記異なる塩基が、核酸の 3' 末端に位置する請求項 12 記載の核酸。

【請求項 14】 核酸プローブとして用いられる請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 15】 請求項 1 ないし 9 の複数の請求項に記載された複数の核酸から成る複数の核酸プローブを支持体上に不動化して成る、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグから成る群より選ばれる複数の細菌検出用核酸チップ。

【請求項 16】 配列番号 30 ないし 39 に示される塩基配列を有する核酸のうち複数の核酸を前記核酸プローブとして支持体上に不動化した請求項 15 記載の核酸チップ。

【請求項 17】 請求項 1 ないし 9 の全ての請求項にそれぞれ記載された少なくとも 9 種類の核酸を支持体上に不動化して成るシゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグ検出用核酸チップ。

【請求項 18】 配列番号 30 ないし 39 に示される塩基配列を有する核酸を前記核酸プローブとして支持体上に不動化した請求項 17 記載の核酸チップ。

【請求項 19】 核酸プローブの塩基数が 8 ないし 25 である請求項 15 ないし 18 のいずれか 1 項に記載の核酸チップ。

【請求項 20】 配列表の配列番号 1 に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号 2 ない

し9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・フレクスネリの検出方法。

【請求項21】 配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ボイディの検出方法。

【請求項22】 配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ソネイの検出方法。

【請求項23】 配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チフィの検出方法。

【請求項24】 配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィAの検出方法。

【請求項25】 配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィムリウムの検出方法。

【請求項26】 配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チェスターの検出方法。

【請求項27】 配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・エンテリティディスの検出方法。

【請求項28】 配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・オラニエンバーグの検出方法。

【請求項29】 請求項20ないし28のいずれか1項に記載された核酸の増幅に用いられ、増幅すべき核酸領域の塩基配列のいずれかの末端領域と同一又は相補的な塩基配列を有する核酸から成る核酸増幅用プライマー。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、シゲラ属又はサルモネラ属細菌の測定用核酸及び検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】シゲラ・フレクスネリ (*Shigella flexneri*)、シゲラ・ボイディ (*Shigella boydii*) 及びシゲラ・ソネイ (*Shigella sonnei*) 等のシゲラ属細菌並びにサルモネラ・チフィ (*Salmonella typhi*)、サルモネラ・パラチフィA (*Salmonella paratyphiA*)、サルモネラ・チフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、サルモネラ・チェスター (*Salmonella chester*)、サルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella enteritidis*) 及びサルモネラ・オラニエンバーグ (*Salmonella oranienburg*) 等のサルモネラ属細菌は、感染症又は食中毒の病原菌として、医療上重要であり、その診断、治療又は予防のためには、これらの菌を同定する必要がある。

【0003】従来、菌の同定は、菌を培養し、糖の資化性検査等の生化学的検査を行うことにより主として行われている。しかしながら、この方法では、菌の培養に時間がかかるため、感染症や食中毒の診断、治療や予防を迅速に行うことができないという欠点を有する。

【0004】一方、菌の遺伝子配列に基づき、菌を同定する遺伝子検査も行われている。遺伝子検査は、菌の培養を必要としないため、迅速に検査を行うことができるという利点を有する。遺伝子検査により、近縁の菌同士を識別するために、16SリボソームRNA (rRNA) の塩基配列の異同が利用されている。

【0005】また、特開平11-169175号公報には、酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子 (*gyrB*) の塩基配列の異同によりバクテロイデス細菌、ミコバクテリウム属細菌、キチノファガ属細菌、フラボバクテリウム属細菌、サイトファガ属細菌、シネココッカス属細菌、カウロバクター属細菌及びシュドモナス属細菌等を検出する方法が記載されている。しかしながら、特開平11-169175号公報には、シゲラ属細菌や、サルモネラ属細菌の検出については何ら記載されていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】上記した3種類のシゲ

ラ属細菌及び6種類のサルモネラ属細菌は、いずれも腸内細菌科に属し、その遺伝子配列は極めて類似しており、16S rRNAの塩基配列も極めて類似しているため、16S rRNAの塩基配列に基づく従来の方法により上記9種の細菌を識別して同定することはできない。

【0007】従って、本発明の目的は、遺伝子検査により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグを識別して測定する手段を提供することである。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本願発明者らは、鋭意研究の結果、これらの細菌の酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子(*gyrB*)のある部分の塩基配列が、各菌種を識別できる程度に異なっていることを見出し、かつ、どの部位の塩基が異なっているのかを見出し、それによって、上記9種類の菌を識別的に測定することを想到して本発明を完成した。

【0009】すなわち、本発明は、配列表の配列番号1に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号2ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・フレクスネリ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ボイディ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ゾネイ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィ測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれか

の対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・パラチフィA測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィムリウム測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チェスター測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・エンテリティディス測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・オラニエンバーグ測定用核酸を提供する。

【0010】さらに、本発明は、配列表の配列番号1に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号2ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・フレクスネリの検出方法を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ボイディの検出方法を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ゾネイの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域

中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チフィの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィAの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィウムMの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チェスターの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・エンテリティディスの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・オラニエンバーグの検出方法を提供する。さらに、本発明は、これらの本発明の方法における核酸の増幅に用いられ、増幅すべき核酸領域の塩基配列のいずれかの末端領域と同一又は相補的な塩基配列を有する核酸から成る核酸増幅用プライマーを提供する。

#### 【0011】

【発明の実施の形態】シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィウムM、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグの*gyrB*遺伝子の特定の領域の塩基配列を配列表の配列番号1～9にそれぞれ示す。また、図1～3には、配列番号1～9に示す塩基配列を整列させて示す（なお、配列番号1～9に示された塩基配列と図1～3に示された塩基配列は同一であるが、万一相違があった場合には図1～3を優先させ

る）。図1～3において、シゲラ・フレクスネリの塩基配列のみが全て示され、他の細菌の塩基配列については、シゲラ・フレクスネリの塩基配列と同じ塩基はドットで示し、異なる塩基の部分のみがアルファベットで示されている。従って、図1～3を見れば、どの菌のどの部位の塩基がどのように相違しているのかが一目瞭然である。本発明は、配列番号1～9及び図1～3に示す塩基配列の異同により、上記の9種類の菌を識別して測定することをその原理としている。

【0012】本発明の菌検出用核酸は、核酸増幅用プライマー及びプローブを包含する。まず、核酸増幅用プライマーについて説明する。各菌を測定するためのプライマーは、配列番号1～9に示される、その菌の*gyrB*遺伝子の塩基配列又はその相補鎖の一部と同一の塩基配列を有する核酸断片、好ましくはDNA断片から成る。例えば、シゲラ・フレクスネリ検出用のプライマーであれば、配列番号1に示される塩基配列又はその相補鎖の一部と同一の塩基配列を有する。さらに、プライマーは、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応領域中の塩基とは異なる塩基を少なくとも1つ有する。換言すると、9種類の菌の対応領域の塩基配列が全て同一である断片は、ここでいうプライマーとしては用いられない。なお、本明細書において、「対応領域」とは図1ないし図3、又は後述の図4ないし図11に示すように*gyrB*遺伝子の塩基配列を整列させた際に、ある配列のある領域と縦方向の同一の位置に位置する他の配列の領域を意味する。各菌の測定用プライマーは、その菌については塩基配列が完全に相補的であるので、効率良くハイブリダイズし、対応領域中に異なる塩基（ミスマッチ塩基）を有する菌については、プライマーが効率良くハイブリダイズできないので、増幅がほとんどあるいは全く起きないようにすることができる。従って、このようなプライマーを用いることにより、検体がその菌又はその菌を包含する群に含まれる菌を含んでいるか否かを知ることができる。なお、プライマーは、2以上のミスマッチ部位を含んでもよい。ミスマッチ塩基を有する他の菌の遺伝子が増幅されないことを確保するために、プライマーはフォワード側プライマーで、その3'末端がミスマッチ部位となるようにプライマーを設定することが好ましい。このようにすると、ミスマッチ塩基を有する他の菌は、たとえプライマーとハイブリダイズし得ても、プライマーの3'末端が非相補的で対合できないので、それ以上鎖が伸長せず、従って増幅は起きない。

【0013】プライマーとして設定する領域は、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応領域とミスマッチな塩基を有するように設定する。これは、図1～3を参照して容易に行うことができる。例えば、シゲラ・フレクスネリをこれ以外の8種類の菌と識別して測定するプライマーを設定する場合には、例えば、第87番目（以下、「87nt」のように記載する）のTが3'末端と

なるフォワード側プライマーを用いる。図1から明らかなように、シゲラ・フレクスネリの87ntはTであるが、他の8種類の菌では、対応する塩基は全てCである。従って、3'末端が87ntのTとなるフォワード側プライマーを用いて増幅を行うと、検体中にシゲラ・フレクスネリが含まれる場合にのみ増幅が起き、他の菌が含まれる場合には増幅が起きない。よって、このプライマーを用いることにより、検体中に含まれる菌がシゲラ・フレクスネリかそれ以外かを識別することができる。なお、この場合、3'末端が、他の8種類の菌の対応塩基であるCであるプライマーを用いて同様に増幅操作を行い、増幅が起きるか否かを確認することにより、より確実に上記識別を行うことができる。

【0014】このように、測定する菌のみが他の8種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含むプライマーとしては、シゲラ・フレクスネリ測定用の場合、上記した87ntの他に、図1から明らかなように、354ntのA、399ntのA、441ntのT、567ntのT、759ntのG、786ntのT及び888ntのTを含むプライマーを挙げることができる。

【0015】本発明のプライマーは、上記のように測定する菌のみが他の8種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含むプライマーに限定されるものではなく、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応塩基が異なる塩基を含むプライマーをも包含する。例えば、シゲラ・フレクスネリ測定用の場合、39ntのTを含む、好ましくはこのTを3'末端とするフォワード側プライマーを挙げることができる。この塩基は、シゲラ属の他の2種は対応塩基が共にフレクスネリと同様Tであるが、サルモネラ属の5種は、対応塩基がGになっている。従って、このようなプライマーを用いると、検体中の菌がシゲラ属の3種のいずれかの場合には増幅が起き、サルモネラ属の5種のいずれかの場合には増幅が起きない。従って、このようなプライマーを用いることにより、検体中に含まれる菌がシゲラ属の3種か、サルモネラ属の5種かの識別を行うことができる。同様にして他の適切なプライマーを用いて検定を行うことにより、各プライマーを用いた場合に増幅が起きるか否かのパターンに基づき、容易に菌を同定（単一種に特定）することができる。このように、本明細書において、例えば「シゲラ・フレクスネリ測定用核酸」には、シゲラ・フレクスネリを包含する一群の種を測定するために用いられる核酸も包含されるものと定義する。

【0016】本発明の上記プライマーを用いた菌の測定においては、増幅に用いる一対のプライマーの少なくともいずれか一方のみが上記したミスマッチ部位を有するプライマーであればよく、他方のプライマーは、9種の菌の全てにおいて同一な領域に設定することができる。上記のように、ミスマッチ部位を3'末端とするフォワード側プライマーが本発明のプライマーとして好ましい

ので、フォワード側プライマーとしてはこのようなプライマーを用い、リバース側プライマーは、9種の共通領域に設定することが好ましい。

【0017】なお、PCR等の核酸増幅法自体はこの分野において周知であり、そのためのキット及び装置も市販されているので、プライマーを設定すれば、検体中の菌の遺伝子を鋳型として核酸増幅を容易に行うことができる。また、クエンチャー蛍光色素とレポーター蛍光色素を用いたいわゆるリアルタイム検出PCRを行うことにより、検体中の菌体量を定量することも可能である。従って、本明細書において「測定」とは検出と定量の両者を包含する。なお、リアルタイム検出PCR用のキットも市販されているので、容易に行うことができる。

【0018】核酸増幅は、各測定について1回行うだけでもよいが、1回目で大きな領域を増幅し、2回目でその増幅領域中の領域を増幅する、いわゆるnested核酸増幅を行うことによりさらに確実に測定を行うことができる。この場合、配列番号1～9及び図1～3に示される配列の外側に第1回目の増幅用のプライマーを設定することもできる。配列番号1～9及び図1～3に示される配列の上流側（5'側）に設定されるプライマーの配列の一例を配列番号10に、下流側（3'側）に設定されるプライマー配列の一例を配列番号11に示す。これらの領域にプライマーを設定して先ず配列番号1～9及び図1～3に示される配列の全領域を含む断片を増幅し、次いで、第2回目に上記した本発明のプライマーを用いた増幅を行うこともできる。

【0019】なお、プライマーのサイズは特に限定されないが、15～50塩基程度が好ましく15～30塩基程度がさらに好ましい。また、プライマーは化学合成により容易に調製することができる。

【0020】本発明は、上記したプライマーとして用いられる核酸、好ましくはDNA、に標識を付して成る核酸プローブをも提供する。該プローブは、ミスマッチ部位を含んでいるので、測定すべき種と同一の塩基配列を有する核酸とはハイブリダイズするが、ミスマッチ塩基を有する核酸とはハイブリダイズしない。従って、プライマーの場合と同様、このようなプローブを用いることにより、測定すべき種又は該種を包含する一群の種とそれ以外の種とを識別することができる。ミスマッチ部位についての説明は上記したプライマーの場合と同様である。もっとも、プライマーとは異なり、3'末端がミスマッチ部位であることは特に好ましいということはない。むしろ、核酸プローブの中央近傍、好ましくは核酸断片の一方の端部から塩基数で3/10～7/10の範囲に少なくとも1つのミスマッチ部位を有することが好ましい。また、標識を付さないプローブを膜等の支持体に不動化し、検体遺伝子の増幅物が標識されるようにして検体遺伝子増幅物がプローブを介して膜に結合されるか否かを調べることもできる。このように、標識を付さない核酸

も、検体遺伝子とハイブリダイズするか否かを調べるものは本明細書において「プローブ」と呼ぶ。すなわち、この場合には、上記したプライマーをそのまま核酸プローブとして用いることになる。核酸断片の支持体上での不動態は、市販の装置を用いて周知の方法により行うことができる。

【0021】核酸プローブのサイズは、特に限定されないが、あまりに長いと、各菌間の相溶性が高いので、検体がミスマッチ塩基を含んでいてもハイブリダイズしてしまうようになる。従って、プローブのサイズは、8～25塩基程度が好ましく、8～20塩基がさらに好ましい。標識としては、従来の核酸プローブに用いられる周知の標識を用いることができ、例えば放射標識、蛍光標識、酵素標識、ビオチン標識等を挙げることができる。また、プローブは従来のプローブと同様に用いることができる。

【0022】上記した本発明の各シゲラ属又はサルモネラ属細菌測定用核酸は、上記した9種の細菌に加え、さらにサルモネラ・パラチフィB (*Salmonella paratyphi* B)、大腸菌0157株 (*Escherichia coli* 0157)、エルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、エルシニア・ルケリ (*Yersinia ruckeri*)、エンテロバクター・クロアカエ (*Enterobacter cloacae*)、エンテロバクター・アエロゲネス (*Enterobacter aerogenes*)、ビブリオ・アルギノリチカス (*Vibrio alginolyticus*)、ビブリオ・カンベリ (*Vibrio campbellii*)、ビブリオ・ジアゾトロフィカス (*Vibrio diazotrophicus*) 及びビブリオ・ガゾゲネス (*Vibrio gazogenes*) から成る10種の群より選ばれる細菌の少なくとも1種以上、好ましくは5種以上、さらに好ましくは7種以上とも識別して上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌を測定することができるものであることが好ましい。これらの10種の細菌は、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌と同様に、食中毒の原因菌として重要なものであるので、食中毒の原因菌を特定する目的のためには、これら10種の細菌と識別して上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌を同定できることが有利である。これらの10種の細菌のgyrB遺伝子の塩基配列をそれぞれ配列番号20ないし29に示す。また、これらの配列を上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌のgyrB配列と整列させたものを図4ないし図11に示す。なお、図4ないし図11においては、図1ないし図3と同様、シゲラ・フレクスネリの塩基配列のみが全て示され、他の細菌の塩基配列については、シゲラ・フレクスネリの塩基配列と同じ塩基はドットで示し、異なる塩基の部分のみがアルファベットで示されている。また、対応する塩基が存在しない部位はハイフンで示されており、シゲラ・フレクスネリのgyrB遺伝子の配列が存在しない領域では、この領域に塩基配列を有する菌の配列が記載されている。図4ないし図11から、合計19種のgyrB遺伝子の塩基配列

の対応関係及びミスマッチ部位が一目瞭然である。すなわち、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌測定用核酸は、それぞれが、配列番号20ないし29に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に前記断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成るものであることが好ましい。なお、上記と同様、上記のように測定する菌のみがこれら10種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含む核酸に限定されるものではなく、これら10種類の菌の少なくともいずれか1種、好ましくは少なくともいずれか5種、さらに好ましくは少なくともいずれか7種の対応塩基が異なる塩基を含む核酸であればよい。

【0023】本発明は、また、上記した本発明の9種の菌測定用の核酸プローブのうち複数の核酸プローブを支持体上に不動態化して成る、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ポイディ、シゲラ・ソネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリチディス及びサルモネラ・オラニエンバーグから成る群より選ばれる複数の細菌検出用核酸チップをも提供する。このような核酸チップには、これら9種類の菌測定用の核酸プローブのうち、少なくとも3種類以上、好ましくは6種類以上、最も好ましくはこれら9種類全部の菌を検出するための核酸プローブが不動態化されていることが好ましい。不動態化される核酸プローブは、さらに、配列番号20ないし29にそのgyrB遺伝子配列が示される、上記した10種類の菌の少なくともいずれか1種、好ましくは少なくともいずれか5種、さらに好ましくは少なくともいずれか7種の対応塩基が異なる塩基を含む核酸であることが好ましい。そうすることによって、検体中の菌が上記10種の菌ではないということも併せて確定できるからである。なお、この場合に、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属菌の識別の場合と同様、これら10種の菌のうちの複数のものともハイブリダイズする核酸プローブを用いた場合であっても、核酸プローブの組合せを用いることにより、他の複数の核酸プローブとハイブリダイズするか否かのパターンに基づき、検体中の菌が上記10種の菌ではないということを確定することが可能である。このような核酸プローブの組合せの一例が下記実施例4に記載されている。

【0024】複数の菌種測定用の核酸プローブを不動態化して上記のような核酸チップにする場合、検体中の標的核酸（本明細書において、本発明の各核酸プローブとハイブリダイズする、検出すべき各核酸を「標的核酸」という）とのハイブリダイゼーションの至適条件が、全ての不動態化核酸プローブについて実質的に同じになるように設定すれば、核酸チップ全体を増幅産物液と同時に接触させ、同じ条件でハイブリダイズさせることで良好に検査を行うことができるので好ましい。このため、核酸チップに不動態化する各核酸プローブと標的核酸とのハイ



ブリダイゼーションにより形成される二本鎖核酸の融解温度 $T_m$ は、最高のもとの最低のものとの差が $4^{\circ}\text{C}$ 以内、好ましくは $2^{\circ}\text{C}$ 以内であることが好ましい。また、検査の正確さを高めるために、各核酸プローブの中央近傍、好ましくは核酸断片の一方の端部から塩基数で $3/10\sim 7/10$ 、さらに好ましくは $4/10\sim 6/10$ の範囲に少なくとも1つのミスマッチ部位を有することが好ましい。

【0025】本発明の核酸チップは、従来のDNAチップと同様に用いることができる。すなわち、検体中の標的核酸（すなわち、*gyrB*遺伝子又はその一部）を、該標的核酸を増幅できる一対のプライマーを用いて、PCRのような周知の核酸増幅法により増幅する。この時に用いるプライマーは、種特異的なプライマーではなく、検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できるものであることが好ましい。なお、ここで、識別しようとする菌とは、検出された菌が、特定の他の種の菌ではないということを確認しようとする場合における特定の他の種の菌のことを意味し、検出すべき菌以外の上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属菌及び上記10種のエルシニア属菌、エンテロバクター属菌、ビブリオ属菌、大腸菌及びサルモネラ・パラチフィBから選択される。検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅することにより、後段の核酸チップ上での陽性パターンにより、菌の同定が可能となる。なお、検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できるプライマーの組合せは、これら全ての菌の対応領域が全て同一配列となっている2つの領域（ただし一方は相補鎖）にハイブリダイズするプライマーを設定すればよく、これは図4ないし図11に示される塩基配列に基づき容易に行うことができる。あるいは、全ての菌の対応領域が全て同一配列となっていない領域にハイブリダイズするプライマーであっても、ハイブリダイズすべき各領域に相補的な複数のプライマーを含む混合プライマーを用いることによっても検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できる。なお、増幅される領域内に核酸チップ上の各核酸プローブがハイブリダイズする領域が存在することが必要であることは言うまでもない。標的核酸の増幅の際、増幅核酸を構成する原料として用いられるヌクレオチドとして、標識ヌクレオチドを用いる。もっとも、標識ヌクレオチドは4種類のヌクレオチドのうちの1種類だけでよく、他の3種類のヌクレオチドは標識されていない通常のヌクレオチドを用いることができる。標識ヌクレオチドを用いることにより、増幅される標的核酸は、標識されたものとして得られる。この標識増幅産物を核酸チップ上の各核酸プローブとハイブリダイズさせ、洗浄後、支持体上に結合された標識を測定することにより、検体中に各核酸プローブについての各標的核酸が含まれていたか否かを知ることができる。そして、複数の核酸プローブのどれがハイブリダイズした

のか、その陽性スポットのパターンに基づいて検体中に含まれる菌を同定することができる。なお、上記した操作、すなわち、標的核酸の増幅、核酸プローブとのハイブリダイゼーション、支持体上に結合された標識の検出等は、全て周知の常法により行うことができる。

【0026】また、本発明により、上記9種の近縁細菌の*gyrB*遺伝子の塩基配列が決定されたので、配列番号1～9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、他の8種の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定し、それを配列番号1～9に示される塩基配列と比較することにより、菌を同定することができる（以下、この方法を「ダイレクトシーケンシング法」ということがある）。増幅すべき領域としては、その領域の塩基配列を調べることにより種の同定までできることとなる領域が好ましい。このような領域は、配列番号1～9に示す配列の全領域であってもよいし、それよりも狭い領域であってもよい。

【0027】ダイレクトシーケンシング法の場合には、塩基配列をダイレクトに決定するのであるから、上記のようなミスマッチ部位を有するプライマーを用いる必要はなく、増幅領域の両端にそれぞれ相補的な通常のプライマーを用いることができる。

【0028】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0029】**実施例1** *gyrB*遺伝子の塩基配列の決定

(1) 菌体前処理

シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス又はサルモネラ・オラニエンバーグをそれぞれ、常法により液体培養3mlで準培養した。その後、12000 rpm、 $4^{\circ}\text{C}$ 、10分遠心して菌体を集めた。これを精製水50 $\mu\text{l}$ に溶解し、 $100^{\circ}\text{C}$ 、10分加熱した。これを15000 rpm、 $4^{\circ}\text{C}$ 、10分遠心して上清を新しいチューブに移し、これをDNA液とした。

【0030】(2) PCR

このDNAを鋳型にしてPCRを行った。用いたフォワード側プライマーUP1及びリバース側プライマーUP2の塩基配列をそれぞれ配列番号10及び11に示す。反応組成は、10xPCR バッファ（100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl, 15mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.001%(w/v)ゼラチン）10 $\mu\text{l}$ 、各2 mMの各dNTP 10 $\mu\text{l}$ 、50 $\mu\text{M}$ プライマーUP1 2 $\mu\text{l}$ 、50 $\mu\text{M}$ プライマーUP2 2 $\mu\text{l}$ 、AmpliTa q Gold(PERKIN ELMER社製)0.5 $\mu\text{l}$ 、DNA 10 $\mu\text{l}$ で反応させた。条件は、 $96^{\circ}\text{C}$ 1分、 $60^{\circ}\text{C}$ 1分、 $72^{\circ}\text{C}$ 2分、60サイクルで反応させた。3%アガロースゲル電

気泳動で目的産物の確認をした。増幅が確認できたものについてはG-50セファデックスカラム（ファルマシア社製）を使い精製した。精製物は、3000 rpm、1分遠心して回収した。

### 【0031】(3) シークエンス

精製増幅産物を使用して以下の反応条件でシークエンスを行った。オートシークエンサーは、ABI PRISM310 Genetic Analyzer (ABI社製)を使用した。試薬は、BigDye Terminator Cycle Sequencing, FS (ABI社製)を使用した。反応条件は、ABI社のプロトコールに従った。

【0032】その結果、上記した9種の菌について、それぞれ配列番号1～9に示す塩基配列が決定された。

【0033】**実施例2** プライマーを用いた菌の同定 シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイから実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用い、本発明のプライマーを用いてこれら3種の識別を行った。

【0034】フォワード側プライマーとして、次の6種類のものを用いた。

F-M1t: agcgtgacggcaagaagatcat

F-M1c: agcgtgacggcaagaagaccac

fl-Ma: agaacaaaacgcccgatccaccca

fl-Mg: agaacaaaacgcccgatccacccg

bo-Mt: acaagaacaaaacgcccgatccat

bo-Mc: acaagaacaaaacgcccgatccac

また、リバース側プライマーとして次のR-125プライマーを用いた。

R-125: ctggaaaccatcggttcact

【0035】各フォワード側プライマー配列中、下線を引いた部分がミスマッチ部位である。いずれも少なくとも

も3'末端がミスマッチ部位となっている。F-M1t及びF-M1cは、308nt～330ntの領域であり、F-M1tは、327nt及び330ntをサルモネラ属の5種と同じくTにしたものであり、F-M1cは、これらをシゲラ属の3種と同じくCとしたものである。なお、F-M1cの配列は、シゲラ・フレクスネリ及びシゲラ・ボイディの配列と完全に同一であり、シゲラ・ゾネイとは312ntが異なっているが、後述の結果に示されるように、ミスマッチ部位が3'末端ではないので、シゲラ・ゾネイの場合にも増幅が起きている。fl-Ma及びfl-Mgは、377nt～399ntの領域であり、fl-Maはシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、fl-Mgは、シゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一である。bo-Mt及びbo-Mcは、374nt～396ntの領域であり、bo-Mtはシゲラ・フレクスネリ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一であり、bo-Mcはシゲラ・ボイディの配列と完全に同一である。

【0036】上記した6種類のフォワード側プライマーのそれぞれと、リバース側プライマーR-125の組合せで6通りのPCRを行った。試薬及び反応条件は、実施例1と同様に行った。

【0037】結果を下記表1に示す。表1中、「○」は増幅が起きたこと、「—」は増幅が起きなかったことを示す。表1に示されるように、それぞれの種にとって、増幅が起きるフォワード側プライマーの組合せが異なっているので、どのフォワード側プライマーで増幅が起きたかを調べるによりこれらの3種の菌を識別することができる。

### 【0038】

【表1】

|                    | F-M1t | F-M1c | fl-Ma | fl-Mg | bo-Mt | bo-Mc |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>S. flexneri</i> | —     | ○     | ○     | —     | —     | ○     |
| <i>S. sonnei</i>   | —     | ○     | —     | ○     | —     | ○     |
| <i>S. boydii</i>   | —     | ○     | —     | ○     | ○     | —     |

### 【0039】**実施例3** プローブを用いた菌の同定

#### (1) 検体

シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA及びサルモネラ・エンテリティディスから実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用い、本発明のプロープを用いてこれら6種の識別を行った。

#### 【0040】(2) プロープ

プロープとしては、以下の9種類を用いた。

S1-CA: caccacaat

S1-CG: caccogaat

S1-TG: catccgaat

S2-C: ccaccgaaa

S2-T: ccactgaaa

S3-TGT: ttggcgttg

S3-TGC: ttggcgtcg

S3-CGG: tcggcgtgg

S3-CAC: tcggcatcg

【0041】これらのプロープのうち、S1-CA、S1-CG及びS1-TGは394nt～402ntの領域であり、S1-CAはシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、S1-CGはシゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ及びサルモネラ・エンテリティディスの配列と完全に同一であり、S1-TGはシゲラ・ボイディ及びサルモネラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。S2-C及びS2-Tは、416nt～424ntの領域であり、S2-Cの配列は、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、サルモネラ・チフィ及びサルモネラ・エンテリティディスの配列と完全に同一であり、S2-Tの配列は、シゲラ・ゾネイ及びサルモネラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。S3-TGT、S3-TGC、S3-CGG及び

S3-CACは434nt～442ntの領域であり、S3-TGTの配列はシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、S3-TGCの配列はシゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一であり、S3-CGGの配列はシゲラ・チフィの配列と完全に同一であり、S3-CACの配列はシゲラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。

#### 【0042】(3) メンブレンの調製

上記各プローブを、100 pM/ $\mu$ lに調整した後、メンブレンに50  $\mu$ lずつ固相した。UVクロスリンカーで1200x10<sup>4</sup>  $\mu$ MJ/cm<sup>2</sup>で照射してドットプロット用のメンブレンを調製した。

#### 【0043】(4) サンプルの放射標識

フォワード側プライマーとして、F-125: aaagcatttgttg aatat、リバース側プライマーとして、上記R-125を用い、各検体遺伝子を鋳型として、放射標識dCTP存在下でPCRを行うことにより、放射標識されたサンプルを調製した。PCRは、10xPCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% (w/v) ゼラチン) 5  $\mu$ l、各10 mM d(A, G, T) 0.8  $\mu$ l、[ $\alpha$ -32P]dCTP (150  $\mu$ Ci) 3.0  $\mu$ l、各50  $\mu$ M プライマーF-125及びR-125 1  $\mu$ l、Ampli Taq Gold (PERKIN ELMER社製) 0.3  $\mu$ l、DNA 5  $\mu$ lで反応させた。条件は、96℃

1分、60℃1分、72℃2分で25サイクル反応させた。PCR標識後、セファデックスG-50カラムで標識物を精製した。

【0044】(5) ハイブリダイゼーション及び現像  
先に作製したメンブレンに精製放射標識物を加え、55℃4時間反応させた。2xSSC-0.1%SDS洗浄溶液を加え、室温で10分間、3回洗浄した。次に0.1xSSC-0.1%SDS洗浄液で3回洗浄後、0.1xSSCで50℃、10分間洗浄した。このメンブレンをオートラジオグラフィーカセット、オートラジオグラフィー用フィルム（フジフィルム）を暗室でセットした。-80℃で一晩オートラジオグラフィーを行った。自動現像装置（コダック社製）で現像した。

【0045】結果を下記表2に示す。表2中、「○」はメンブレンにサンプルが結合したことを示し、「-」は結合しなかったことを示す。表2に示されるように、それぞれの種によって、結合するプローブの組合せが異なっているので、上記の方法によりこれら6種を識別することができる。

#### 【0046】

#### 【表2】

表2

|                 | S1-CA | S1-CG | S1-TG | S2-C | S2-T | S3-TGT | S3-TGC | S3-CGG | S3-CAC |
|-----------------|-------|-------|-------|------|------|--------|--------|--------|--------|
| シゲラ・フレクスネリ      | ○     | -     | -     | ○    | -    | ○      | -      | -      | -      |
| シゲラ・ゾネイ         | -     | ○     | -     | -    | ○    | -      | ○      | -      | -      |
| シゲラ・ボイディ        | -     | -     | ○     | ○    | -    | -      | ○      | -      | -      |
| サルモネラ・チフィ       | -     | ○     | -     | ○    | -    | -      | -      | ○      | -      |
| サルモネラ・パラチフィA    | -     | -     | ○     | -    | ○    | -      | -      | -      | ○      |
| サルモネラ・エンテリティディス | -     | ○     | -     | ○    | -    | -      | -      | -      | -      |

【0047】参考例1 gyrB遺伝子の塩基配列の決定  
サルモネラ・パラチフィB、大腸菌0157株、エルシニア・エンテロコリチカ、エルシニア・ルケリ、エンテロバクター・クロアカエ、エンテロバクター・アエロゲネス、ビブリオ・アルギノリチカス、ビブリオ・カンペリ、ビブリオ・ジアソトロフィカス及びビブリオ・ガソゲネスの各培養物を用いて実施例1と同じ操作を行い、これら10種の細菌のgyrB領域の塩基配列を決定し

|       |                     |          |
|-------|---------------------|----------|
| Shi1  | caagaacaaaacgcc     | (配列番号30) |
| Shi21 | attggcgttgaagt      | (配列番号31) |
| Shi22 | cgatccatccgaata     | (配列番号32) |
| Shi23 | ttctccactgaaaaaga   | (配列番号33) |
| Sal1  | aacaagaataaaaacgcc  | (配列番号34) |
| Sal21 | cggcgtcgaagta       | (配列番号35) |
| Sal22 | cggcgtggaagta       | (配列番号36) |
| Sal23 | tgaatatctcaacaagaat | (配列番号37) |
| Sal24 | atcttctatttctccac   | (配列番号38) |
| Esc1a | acggtatcgccgt       | (配列番号39) |

【0049】上記各プローブがハイブリダイズする種及びその領域（図4～11参照）を下記表3に示す。

た。決定された塩基配列を配列表の配列番号20～29にそれぞれ示す。また、これら10種の細菌及び上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌の合計19種の菌のgyrB遺伝子の決定された塩基配列を整列させたものを図4ないし図11に示す。

#### 【0048】実施例4 DNAチップによる菌の同定

##### (1) DNAチップの作製

以下の11種類のプローブを化学合成した。

#### 【0050】

#### 【表3】

| プローブ  | ハイブリダイズする種   | 領域          |
|-------|--|-------------|
| Shi1  | シゲラ・フレキシネリ<br>シゲラ・ゾネイ<br>シゲラ・ボイディ<br>大腸菌0157<br>エンテロバクター・クロアカエ<br>エンテロバクター・アエロゲネス  | 376nt～390nt |
| Shi21 | シゲラ・フレキシネリ   | 434nt～448nt |
| Shi22 | シゲラ・ボイディ<br>サルモネラ・パラチフィA   | 391nt～404nt |
| Shi23 | シゲラ・ゾネイ<br>サルモネラ・パラチフィA  | 413nt～429nt |
| Sa11  | サルモネラ・チフィ<br>サルモネラ・パラチフィA<br>サルモネラ・パラチフィB<br>サルモネラ・エンテリティディス<br>サルモネラ・チェスター<br>サルモネラ・オラニエンバーグ<br>サルモネラ・チフィムリウム               | 374nt～390nt |
| Sa121 | サルモネラ・パラチフィB<br>サルモネラ・エンテリティディス  | 436nt～448nt |
| Sa122 | サルモネラ・チフィ<br>サルモネラ・チェスター<br>サルモネラ・オラニエンバーグ<br>サルモネラ・チフィムリウム  | 436nt～447nt |
| Sa123 | サルモネラ・チフィ<br>サルモネラ・パラチフィA<br>サルモネラ・パラチフィB<br>サルモネラ・オラニエンバーグ  | 364nt～382nt |
| Sa124 | サルモネラ・チフィ<br>サルモネラ・チフィムリウム<br>エンテロバクター・アエロゲネス  | 404nt～420nt |
| Esc1a | サルモネラ・チフィ<br>サルモネラ・パラチフィB<br>サルモネラ・エンテリティディス<br>サルモネラ・チェスター<br>サルモネラ・オラニエンバーグ<br>サルモネラ・チフィムリウム<br>大腸菌0157<br>エンテロバクター・アエロゲネス | 430nt～441nt |

【0051】上記のプローブを200 $\mu$ M/ $\mu$ lに調整した後、スポッティング溶液（商品名「Micro Spotting Solution」（Telechem International, Inc製）を等量加え、最終濃度100 $\mu$ M/ $\mu$ lに調製した。これを、マイクロタイタープレートに分注後、スライドガラスに市販のマイクロアレイ作製機で固相した。一昼夜乾燥させた後、0.2%SDS溶液、蒸留水で洗浄した。次に、95℃の蒸留水で加熱した後、Na<sub>2</sub>BH<sub>4</sub>溶液で洗浄した。再度、SDS

溶液と蒸留水で洗浄した後、乾燥させDNAチップを作製した。

#### 【0052】(2) 検体の調製

シゲラ・フレキシネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・エンテリティディス、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・オラニエンバーグ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・パラチフィB、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・チフィムリウム及び大腸菌

0157から実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用いた。各検体中の各DNAを下記の一对のプライマーF-137及びR-137を用いてPCRにより増幅した。なお、増幅領域は、シゲラ・フレキシネリの383nt~519ntの領域及び各菌の対応領域である。

F-137 : gaaggyggyatymargmrtt

R-137 : tcytgraarcyrtrcttcca

増幅は、放射標識dCTP存在下で行い、これにより増幅産物は放射標識された。反応組成は、10×PCRバッファ (100mM TrisHCl, pH8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% (W/V)ゼラチン) 5μl、2mM d(A,G,T,C) 10μl、放射標識dCTP (商品名FluoroLink Cy5-dCTP) (1mM) 1μl、50μM PrimerF-137 1μl、PrimerR-137 1μl、AmpliTa q Gold (PERKIN ELMER社製DNAポリメラーゼ) 0.3μl、DNA 5μlで反応させた。条件は、96°C1分、60°C1分、72°C4分、60サイクルで反応させた。PCR標識後、セファデックスG-50カラム (商品名) で標識物を精製した。

#### 【0053】(3) ハイブリダイゼーション

先に作成したDNAチップに精製Cy-5標識増幅産物を加え、40°C4~18時間反応させた。2×SSC-0.02%SDS洗浄溶液を加え、室温で3分間、1回洗浄した。次に、0.1×SSC洗浄液で、3分間洗浄し、乾燥させた。これを、マイクロアレイ読みとり機で、スキャンさせデータを解析した。

#### 【0054】(4) 結果

結果を図12及び図13に示す。なお、これらの図において、下側にプローブ名が記載されている円は、そのプローブを不動化したスポットを示し、黒く塗りつぶされているスポットが陽性 (すなわちプローブとハイブリダイズした) のスポットであり、白抜きのは陰性 (すなわちプローブとハイブリダイズしなかった) のスポットを示す。これらの図からわかるように、各菌によって陽性となるスポットのパターンが異なっており、このパターンに基づいて菌が同定できることがわかる。なお、表3に示すように、プローブShi21以外のプローブは全て複数の菌由来のgyrB遺伝子断片とハイブリダイズするものであるが、それらを組み合わせることにより、陽性となるスポットのパターンに基づいて菌の同定が可能であることがわかる。

#### 【0055】

【発明の効果】以上の通り、本発明により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ソネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバグを遺伝子検査により、識別して迅速に測定することが初めて可能になった。従って、本発明は、これらの菌により引き起こされる感染症や食中毒の診断、治療及び予防に大いに貢献するものと期待される。

#### 【0056】

#### 【配列表】

#### SEQUENCE LISTING

```
<:110>: SRL, INC.
<:120>: Nucleotides for Measuring Bacteria Belonging to Genus Shigella or
        Salmonera
<:130>: 00660
<:160>: 39
```

#### 【0057】

```
<:210>: 1
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 1
cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcgtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60
cctgtcgcaa aaactggagc tggttattca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120
cgaacacggt gtaccgcagg ctccgctggc gggtaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180
catggtgcgt ttctggccca gctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240
aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcgttt ccattcgtct 300
gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaagcgtt 360
cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacca aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtattggcg ttgaagtggc gctgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480
catctactgc ttaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcta ccctgaatgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agocaaagtc agcgccacgc gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgagg tcgtttccgt 660
aaaagtgcgc gaccgaaat tctcctccca gaccaagac aaactggttt cttctgaggt 720
```

gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctggcg gaatacctgc tggaaaaccc 780  
 aactgatcgc aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840  
 gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagctg gcctgccggg 900  
 caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tgggtgaagg 960  
 ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020  
 gctgaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080  
 ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140  
 ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0058】

<:210>: 2  
 <:211>: 1171  
 <:212>: DNA  
 <:213>: *Shigella boydii*  
 <:400>: 2

cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcggtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60  
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120  
 cgaacacggt gtaccgcagg ctccgctggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180  
 catggtgcgt ttctggccca gcctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240  
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcggtt ccattcgtct 300  
 gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaggcggt 360  
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccatccg aatatcttct acttctccac 420  
 cgaaaaagac ggtattggcg tcgaagtggc gttgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480  
 catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540  
 ccgtgcggcg atgaccgcta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600  
 agccaaagtc agcgccactg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660  
 aaaagtgcg gaccggaat ttctctccca gaccaaagac aaactgggtt cttctgaggt 720  
 gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctggca gaatacctgc tggaaaaccc 780  
 aaccgacgcg aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840  
 gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgccggg 900  
 caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tgggtgaagg 960  
 ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020  
 gctgaagggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080  
 ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140  
 ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0059】

<:210>: 3  
 <:211>: 1171  
 <:212>: DNA  
 <:213>: *Shigella sonnei*  
 <:400>: 3

cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcggtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60  
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120  
 cgaacacggt gtaccgcagg caccgttggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180  
 catggtgcgt ttctggccca gcctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240  
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcggtt ccattcgtct 300  
 gcgcgacaag cgcgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaggcggt 360  
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420  
 tgaaaaagac ggtattggcg tcgaagtggc gttgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480  
 catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540  
 ccgtgcggcg atgaccgcta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600

```

agccaaagt agcgccaccg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
gaaagtgcgg gaccgaaat tctctccca gaccaagac aaactggttt cttctgaggt 720
gaaatcagcg gttgaacagc agatgaacga actgctggca gaatacctgc tggaaaaccc 780
aaccgacgcg aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgcgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgccggg 900
caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaagg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0060】

```

<:210>: 4
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella typhi
<:400>: 4

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggtggtct gcacggggtg ggcgctcogg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgcccagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttactaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgttt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaacgcc gatccaccgc aatatcttct atttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgca cgtgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgocaccg gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtgcgg gaccgaaat tctctcaca gaccaagat aagctggtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaatcgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagcgg gtctgccggg 900
caaactggcg gattgtcagg aacgcgacc gcgcgtgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcagg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaagg aaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc ttctctccca 1080
ggaagtggcg acgctgatca ccgcgctggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0061】

```

<:210>: 5
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella paratyphiA
<:400>: 5

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggtggtct gcacggcgtg ggcgctcogg tagttaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgcccagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttaccaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tctggcgttt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgacggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcatt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaacgcc gatccatccg aatatcttct atttctccac 420
tgaaaaagac ggtatcggca tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480

```

```

catctactgc tttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcga cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gatccgaaat tctctcaca gaccaaagat aagctgggtc cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtgaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagccg gtcgtccggg 900
caaaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggc gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaaggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaagtggcg acgttgatta ccgcgtggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0062】

```

<:210>: 6
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella typhimurium
<:400>: 6

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcgggtc gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgcagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttcaccaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctgaacaaga ataaacgcc gatccaccgc aatatcttct atttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaaagtag cctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc ttgcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcga cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gatccgaaat tctctcaca gaccaaagat aagctgggtc cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtgaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaatcgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtcgtccggg 900
caaaactggcg gactgtcagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggc gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaaggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tttcctccca 1080
ggaagtggcg acgttgatca ccgcgtggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0063】

```

<:210>: 7
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella chester
<:400>: 7

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcgggtc gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgcagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttcaccaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360

```



```

tgttgaatat ctgaacaaga ataaaacgcc gatccaccgc aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480
tatctactgc ttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcga cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agctaaagtc agcgccaccg gcgatgatgc ccgtgaaggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtgcg gaccgaaat tctcctcaca gaccaaagat aagctgggtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga attgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaatat tatcgaatgc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctc gatttagcgg gtctgccggg 900
caaaactggc gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tgggtgaagg 960
ggactccgcg ggcggtctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaaagtggc acgtgatca ccgcgtggg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0064】

```

<:210>: 8
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella enteritidis
<:400>: 8

```

```

cgataactcc tataaagtct ctgggtgtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tctggcggtt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcggt 360
tgttgaatat ctgaacaaga ataaaacgcc gatccaccgc aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480
tatctactgc ttaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc ttgcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcta cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccactg gcgacgatgc ccgtgaaggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gaccgaaat tctcctcga gaccaaagac aagctgggtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtggaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacttgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagcgg gtctgccggg 900
caaaactggc gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tgggtgaagg 960
ggactccgcg ggcggtctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaaagtggc acgtgatca ccgcgtggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0065】

```

<:210>: 9
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella oranienburg
<:400>: 9

```

```

cgataactcc tataaagtct ccgggtgtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggtac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240

```

```

gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ctatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca tttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcga cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcggcaccg gcgacgatgc ccgtgaaggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
gaagggtgccg gaccgaaat tctcctcgca gaccaaagat aagctgtgtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga attgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
cggtcgcgcc cgtgaaatga ccgctcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtctgccggg 900
caaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctccttca 1080
ggaagtggcg actctgatca ccgcactggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgttaccaca gcatcattat c 1171

```

## 【0066】

```

<:210>: 10
<:211>: 41
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 10
gaagtcatca tgaccgttct gcaygcnggn ggnaarttyg a 41

```

## 【0067】

```

<:210>: 11
<:211>: 44
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 11
agcagggtac ggtagtgcga gccrtonacr tngcrtcng tcat
44

```

## 【0068】

```

<:210>: 12
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Salmonella bacteria
<:400>: 12
agcgtgacgg caaagaagat cat 2
3

```

## 【0069】

```

<:210>: 13
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri and S
higella boydii
<:400>: 13

```

agcgtgacgg caaagaagac cac 23

【0070】

<:210>: 14  
 <:211>: 23  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri  
 <:400>: 14  
 agaacaaaac gccgatccac cca 2  
 3

【0071】

<:210>: 15  
 <:211>: 23  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella boydii and Shigella sonnei  
 <:400>: 15  
 agaacaaaac gccgatccac ccg 23

【0072】

<:210>: 16  
 <:211>: 23  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri and Shigella sonnei  
 <:400>: 16  
 acaagaacaa aacgccgatc cat 23

【0073】

<:210>: 17  
 <:211>: 23  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella boydii  
 <:400>: 17  
 acaagaacaa aacgccgatc cac 23

【0074】

<:210>: 18  
 <:211>: 20  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: Reverse primer for amplifying gyrB gene of Shigella and Salmonella  
 <:400>: 18  
 ctggaaccca tcgttcact 20

## 【0075】

<:210>: 19  
 <:211>: 20  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>: 18  
 <:223>: Forward primer for amplifying gyrB gene of Shigella and Salmonella  
a  
 <:400>: 19  
 aaagcatttg ttgaatat 18

## 【0076】

<:210>: 20  
 <:211>: 1171  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Salmonella paratyphiB  
 <:400>: 20  
 cgataactcc tataaagtct ccggcgggtct gcacggcgtg ggcggtctcgg tagtcaacgc 60  
 tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120  
 cgagcacggc gtgccgcagg cacccttggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180  
 gatggtagct ttctggccga gccacgaaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240  
 gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccattccgct 300  
 gcgcgacaag cgcgacggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360  
 tgttgaatat ctcaacaaga ataaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420  
 cgaaaaagac ggtatcggcg tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480  
 catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcagggtt 540  
 ccgtgcggcg atgaccgca cgtgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600  
 agccaaagtc agcgcaccg gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattcggg tggtttccgt 660  
 aaaagtaccg gatcggaaat tctctcaca gaccaaagat aagctggtct cttccgaggt 720  
 gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780  
 atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840  
 gcgtgcgcgc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtctgcggcg 900  
 caaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960  
 ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020  
 gctgaaaggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc ttctctccca 1080  
 ggaagtggcg acgctgatca ccgcgctggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140  
 ggacaagctg cgctatcaca gcattcatcat c 1171

## 【0077】

<:210>: 21  
 <:211>: 1171  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Escherichia coli 0157  
 <:400>: 21  
 cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcgtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60  
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttattca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120  
 cgaacacggt gtaccgcagg caccgctggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180  
 catggtagct ttctggccca gcctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240  
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tcggcggttt ccattcgtct 300  
 gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaagcgtt 360  
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacca aatatcttct acttctccac 420  
 cgaaaaagac ggtatcggcg ttgaagtggc gctgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480

```

catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcgccg atgaccocgta ccctgaatgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
aaaagtgcg gaccocgaaat tctcctccca gaccaaagac aaactggttt cttctgaggt 720
gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgttggcg gaatacctgc tggaaaaccc 780
aactgacgcg aaaaatcgtg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgccggg 900
caaaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc ttgtggaagg 960
ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ttgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0078】

```

<:210>: 22
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Yersinia enterocolitica
<:400>: 22

```

```

cgataactcg tacaaagttt ccggtgggtt gcacggcgta ggtgtatccg ttgttaacgc 60
cctgtctgaa aaactggagc tggatgattc ccgtgaaggc aaagtgcacg agcagactta 120
caagatgggt gtgccgcagg caccattgaa agtgggtggc gaaaccgatc aaaccgggac 180
aaccgtgcgt ttctggccga gcttccagac gtccaccaat aataccgaat tccaatatga 240
aatcctggca aaacgtctgc gtgagctatc gtccctgaac tctgggggtt caatcaagct 300
gaaagacaaa cgtaatgaca aagaagacca cttccattac gaaggcggta tcaaagcgtt 360
tgttagtat ctgaacaaaa acaaaaaccc gatccacccg aaagtgttct atttctccac 420
cgtgaaagat gatatcggtg tggaagtggc attgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
tatttactgt ttaccaaca acattccaca gcgcgatggg gggactcact tagtcgggtt 540
ccgtacggcg atgactcgta ccctgaatag ctacatggat aaagaagggt acagtaaaaa 600
agcgaatac agtgcaaccg gtgatgatgc ccgtgaaggc ttgattgctg tggtttccgt 660
gaaagtgcc gaccctaaat tctcctcaca gaccaaagat aaactggttt cttctgaggt 720
aaaaactcgc gtcgaaacgc tgatgaacga gaagctggtt gagtatttac tggaaaaccc 780
aaccgcagcc aaaaatcgtg ttggcaaaat tattgacgca gcccggtgct gtgaagctgc 840
gcgtaaagcc cgtgaaatga ccgcgccgta aggtgcgctg gatttggtg gcttaccagg 900
caaaactggc gactgtcagg aacgtgaccc agcattgtcc gaactctact tagtggaagg 960
ggactcagcg ggcggctctg cgaacaacgg ccgtaaccgt aaaaatcagg ctattttgcc 1020
gctgaaaggt aaaaattctga acgtcgagaa agcgcgtttt gacaaaatgc tttcctcgca 1080
ggaagtggca acaatgatca ccgcgttggg ttgtggtatt ggacgggatg aatataaccc 1140
ggacaaattg cgttatcaca atatcattat c 1171

```

【0079】

```

<:210>: 23
<:211>: 1137
<:212>: DNA
<:213>: Yersinia ruckeri
<:400>: 23

```

```

ggcgggttgc atggcggtgg tgtgtcagtt gttaacgctc tgtctgaaaa actggagttg 60
gtgattcgcc gtgaaggtaa agttcacgag cagacttaca aaatgggtgt gccgcaagca 120
ccactaaaaa tgggtgggtga aaccgatcag accgggacta cgggtgcgtt ctggccgagc 180
ttocagacct tcaccaataa caccgaattt caatacgaaa ttctggcgaa acgottgcgt 240
gagctgtcgt tctgaactc cggggtttca atcaaaatga aagacaaacg taacgacaaa 300
gaagaccact tccattacga aggcggatc aaagcgtttg ttgagtatct gaacaaaaac 360

```

```

aaaaccccgga tccatccgaa agtgttctat ttctctacta tgaaagatga catcgggtgtg 420
gaagtggcct tgcagtggaa tgatggtttc caagaaaata ttactgctt taccaacaac 480
attccacagc gcgatggcgg taccatttg gttggtttcc gtacggcgat gacgcgtacg 540
ctgaacagct atatggataa agaaggctac agcaagaaag ccaagatcag tgccactggg 600
gacgatgccc gtgaaggcct gattgccgtg gtatcgggta aagtgcggga tcctaaattc 660
tcctcacaga ctaaagataa gctggtttct tccgaagtga aaaccgcggt tgaacgctg 720
atgaacgaga agttggtcga gtatttgctg gaaaacccaa gcgacgcaa aatcgtggtc 780
ggcaagatta ttgatggcg tcgcgtcgt gaagctgcac gcaaagcccg tgaatgacg 840
cgtcgtaaa gggcattgga tctcggcggt ctgcctggca agttggcgga ctgtcaggaa 900
cgcgatccgg cattatctga actttaccta gtggaagggg actcggcggg cggatcggca 960
aaacaaggcc gtaaccgtaa gaatcaggcg attctaccgc tgaaaggtaa gattctgaac 1020
gttgagaaa cgcgttttga taagatgctg tcttcgcagg aagtggccac gctgattact 1080
gcgctgggct gcggtattgg ccgggatgaa tataaccggg acaagttgcg ctatcac 1137

```

【0080】

```

<:210>: 24
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Enterobacter cloacae
<:400>: 24

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcggcct gcacggcgta ggtgtttccg tggtaaacgc 60
cctgtcgag aaactggaac tggttatcca gcgcgaaggc aaattcacc gccagatcta 120
tcagcacggt gtgcctgaag cgccgctggc cgtgaccggc gataccgaaa aaaccggtac 180
catggtgctg ttctggcga gcctcgaaac cttcaccaac gtcaccgagt tcgagtacga 240
catcctggca aaacgcctgc gtgaactgtc gttcctgaac tccggcgtct caattcgtct 300
gcgtgacaaa cgcgacaaca aagaagacca cttccactat gaaggtggtg tcaaagcgtt 360
cgttgaatac ctgaacaaga acaaaacgcc aattcaccca aatatcttct atttctctac 420
ggaaaaagac ggtatcggcg tggaagtggc tctgcagtgg aacgacggtt tccaggaaaa 480
catctactgc ttcaccaaca acattccaca gcgtgacggt ggtacgcacc ttgcgggctt 540
ccgtgcccgc atgaccgcta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agcgaagtc agcgccaccg gtgatgacgc ccgtgaaggc ctgattgctg ttgtctccgt 660
gaaagtgcg gatccgaagt tctcctcaca gaccaaagac aagctggtct cctctgaggt 720
gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctgagc gactacctgc aggaaaaccc 780
gaacgacgcg aaaatcgttg tcgtaaaat tatcgatgca gcgcgtgcc gtgaagcggc 840
gcgtaaaacc cgtgaaatga ccgcgcgtaa aggcgcgctg gacttagcgg gtcgtccggg 900
caaatggct gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc ttgtggaagg 960
ggactccgcg ggcggttctg cgaagcagg ccgtaaccgt aagaaccagg ccatcctgcc 1020
gttgaaaggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgtttc gacaaaatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgctgatca ccgcgtggg ctgcggcatt ggtcgtgacg aatacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat t 1171

```

【0081】

```

<:210>: 25
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Enterobacter aerogenes
<:400>: 25

```

```

tgataactcc tataaagtgt ccggcggctt gcacggcgta ggctgtcgg tggtaaacgc 60
cctgtcgag aagctggagc tggttatcca acgcgataac aaagttcaca acaaaattta 120
tgagcacggt gtccgcagg caccgctggc ggtaaccggt gaaaccgaaa gcaccggtac 180
catggtgctg ttctggccaa gcctggaaac ctttaccac gtcactgaat tcgaatacga 240
aatcctggcg aaacgtctgc gcgagctgct gttcctcaac tccggggtct ctatccgct 300

```

gcgcgataag cgcgacggca aagaagacca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360  
 tgttgagtat ctcaacaaga acaaacgcc gatccacccg aatatcttct atttctccac 420  
 cgaaaaagac ggtatcggcg ttgaagtggc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480  
 catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcgggctt 540  
 ccgcgcggcg atgacccgta ccctgaacgc ctacatggat aaagaaggct acagcaaaaa 600  
 ggcgaaaagtc agcgctaccg gcgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgccg tggtttccgt 660  
 aaagggtgccg gatccgaagt tctcctctca gactaaagac aagctggctt cctccgaggt 720  
 gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780  
 gtccgatgcg aaaatcgtgg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagccgc 840  
 gcgtcgccgc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctt gacctggcag gcctgccggg 900  
 caaactggcg gattgccagg aacgcgaccc ggcgctgtct gaactgtacc tctggaagg 960  
 ggactccgcg ggcggtctcg cgaaacaggg ccgtaaccgt aagaaccagg ctatcctgcc 1020  
 gctgaagggt aaaatcctta acgttgagaa agcccgcttc gataaaatgc tctcttctca 1080  
 ggaagtagcc acgcttatca ccgcgctggg ctgcggcctc ggccgcgatg agtacaaccc 1140  
 ggataaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0082】

<:210>: 26  
 <:211>: 660  
 <:212>: DNA  
 <:213>: *Vibrio alginolyticus*  
 <:400>: 26

gataactcat acaaagtatc ggggtggtctt caccgggtag gtgtttcagt agtaaaccga 60  
 ctatcagaga aagttgagct aacgattcat cgtggtggcc atatccatac gcaaacctac 120  
 cgccatgggt agcctcaagc gccactagcc gttgtgggtg ataccgataa aaccggtaca 180  
 caaatcgtt tctggccaag tgccgagacg ttctctaaca ctgagttcca ctatgacatt 240  
 ctggcgaaac gcctgcgtga actgtcattc ctgaactctg gtgtgtgat caaattggtt 300  
 gatgaacgtg aagcggacaa acatgatcac ttcattgatg aagggtggtat tcaagcgttc 360  
 gttgatcacc taaacaccaa caaacgccca atcatcgaaa aaatcttcca ctttaactct 420  
 gagcgtgaag acggcatttc agttgaagtg gcgatgcaat ggaacgatgg ttccaagag 480  
 aacatcttct gctttaccaa caatatccca cagcgtgatg gtggtactca ccttgctggt 540  
 ttccgtgctg cgctaacacg tacattgaac agctttatgg ataaagaagg ttctcgaag 600  
 aaagcgaana cagcgacttc aggcgacgat gcgcgtgaag gtctaactgc ggtgtttcgc 660

【0083】

<:210>: 27  
 <:211>: 1401  
 <:212>: DNA  
 <:213>: *Vibrio campbellii*  
 <:400>: 27

acggacgacg gcactggtct tcaccacatg gtcttcgagg tgggtgataa ctcaattgat 60  
 gaagcgttgg caggtcactg taaagacatc gttgtgacaa ttcattgagga caactcgtt 120  
 tcagttacgg atgatggacg tggcattcca acagaaatgc acccagaaga aaacgtatct 180  
 gctgcagaag ttatcatgac ggtacttcac gctggtggtg agttcgatga taattcatal 240  
 aaagtatcag gcggtctaca cggcgtaggt gtttcagtag taaacgcact gtctgagaaa 300  
 gtggttctga ctatccaccg cggcggtcat atccatacgc aaacttacca tcatggtgag 360  
 cctcaagcgc cactagcagt aattggtgat actgaaaaaa cgggtacaca aatccgtttc 420  
 tggccaagtg cagaaacatt ctcgaaacaa gaatttcact acgacatcct agcgaagcgt 480  
 ctacgtgaac ttctcttctt gaactctggt gtttcaatca aactggttga tgagcgcgaa 540  
 gcagacaaga gcgaccactt catgtttgaa ggtggtatcc aagcgttcgt tgagcaccta 600  
 aacactaaca aaacaccaat catcgagaaa atcttccact tcgacttga gcgcgaagat 660  
 ggcatctcgg tagaagttgc gatgcagtgg aatgacggtt tccaagagaa catctactgt 720

```

tttactaaca acatcccaca acgtgacggt ggtactcacc ttgccggttt ccgtgcggcg 780
ctaacgcgta cactgaactc ttcatggac aaagaaggct tctctaagaa agcgaataca 840
gcaacgtctg gtgatgacgc gcgtgaaggc ctaactgcgg ttgtttcagt taaagtcca 900
gatccgaagt tctctagcca aacgaaagac aaactggttt cttctgaagt gaagtcagcg 960
gttgaatcag caatgggtga gaaactgtct gagttcctga ttgagaaccc gacagaagcg 1020
aagatggttt gttcgaaaa catcgacgca gctcgtgctc gtgaagctgc gcgtaaagct 1080
cgtgaaatga ctctcgttaa aggcgctcta gacctagcag gtctaccagg caaacttgca 1140
gactgtcagg aaaaagatcc tgcactctct gaactgtaca tagtggaggg tgattcggca 1200
ggcggctccg caaaacaagg ccgtaacggt aagaaccaag caatcctacc gctaaaaggt 1260
aagattctta acgtagaaaa agcgcgattc gacaagatgc ttctcttca agaggtagca 1320
acgtgatta ctgcactagg ttgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc ggacaaactg 1380
cgttaccaca acatcatcat c 1401

```

【0084】

```

<:210>: 28
<:211>: 1401
<:212>: DNA
<:213>: Vibrio diazotrophicus
<:400>: 28

```

```

actgatgatg gcaccggtct acaccacatg gtttttgagg tgggtgataa ctcaatagat 60
gaagcgtagg caggtaactg taaagacatc atcgttacta ttcacgaaga taactcagta 120
tcggttagcg atgacggccg tggatatcca actgaactgc acgaagaaga aaatgtttct 180
gcggcagaag ttatcatgac agtactgcac gctggtggta agttcgatga taactcttac 240
aaagtatcag gtggtctgca tggcgtaggg gtgtcagtgg ttaacgcact atcagaaaaa 300
gtgcttctga ctatttacgg cgggtgtcac atccatactc aaacctatcg ccatggtgtg 360
cctcaagcgc cactaagcgt tgttgggtgat actgaaaaaa cagggtacaac ggttcgtttc 420
tggccaagtg ctgacacctt taccaatata gaattccatt acgatattct tgctaaacgt 480
ctacgtgagc ttctattcct aaactcagcg gtatcaatca aactgattga tgagcgtgaa 540
gaagataaac aagaccactt tatgtatgaa ggtggtatcc aagcgtttgt tactcacctt 600
aaccgcaaca aaactccgat tcatgagaaa gtgttccact ttaactcaga acgtgaagac 660
ggtattagcg ttgaagtagc gatgcagtgg aacgacggtt tccaagaagg tatttactgc 720
tttaccacaa acatcccaca gcgtgatggt ggtactcact tagccggttt ccgtgcagcg 780
ttaactcgta cgttaaacac ctacatggat aaagaaggct acagcaagaa agccaaacag 840
cgaacatctg gtgacgatgc gcgtgaaggc ttgactgcag ttgtctcggg taaagttccg 900
gatccaaaat tctcaagcca aaccaaagac aaactggttt cttctgaagt gaaatctgca 960
gttgaatctg caatgggcca gaaacttaac gagttcctag ctgagcatcc ttctgaagca 1020
aaaatgggtg ttagcaaaa tatcgtatgc gcacgtgcac gtgaagcagc gcgtaaagct 1080
cgtgagatga ctctcgttaa aggcgcgttg gaccttgctg gtcttccagg taaacttgct 1140
gactgtcagg aaaaagatcc tgcactgtct gaactgtaca tagtggaggg tgactctgct 1200
ggcggttcag ctaagcaggg acgtaacgga aagaaccaag caattcttcc gctgaaaggt 1260
aagattctaa acgttgaaaa agcacgtttt gataaatgc ttcttctca ggaagtggca 1320
aactgatta ctgcattagg ttgtggtatc ggtcgcgatg aatacaaccc agataaactg 1380
cgctaccaca acatcatcat c 1401

```

【0085】

```

<:210>: 29
<:211>: 1389
<:212>: DNA
<:213>: Vibrio gazogenes
<:400>: 29

```

```

ggtacgggtc tgcaccacat ggtctttgag gtggtagata actcaattga tgaagcgta 60
cggggttact gtaaagatat catcgtgacg attcacgaag ataactccgt ctacgtcagt 120

```



```

gatgacggtc gtggtattcc gactgagctt cacgaggaag aaaatgtgtc tgcggcagaa 180
gttatcatga cagtgtctga cgcaggcggg aaatttgacg ataactcgta caaagtttcc 240
gggtggttgc atggtgtggg tatctcggtc gtgaacgctt tgtctgaaaa ggttgccctg 300
acaatttata gtagtggcca catttatact cagacttata atcacgggtg gccacagtca 360
ccattggctt ccgtaggaga taccgaaaag tccggaaccc tggcccggtt ctggccgagt 420
agtgaacact ttaccaatat tgaattccat tatgaaattc ttgccaaacg cctgcgtgag 480
ttgtctttcc ttaactccgg tgtttcaatc aaactcattg atgaacgtga tagcaaacag 540
gatcacttca ggtatgaagg cggatttcag gaattcgtat cgcacctgaa ccgcaataaa 600
acaccgatcc atgaccgtgt cttccacttt aatcaggagc gggaagatgg cattacgggt 660
gaagtcgcaa tgcagtggaa tgacagtttt caggaaagta ttttctgctt taccaataac 720
attctcagc gtgatggcgg gacgcacatg gctggtttcc gggcggcatt gactcggacg 780
ctgaacacgt tcatggacaa agaaggcttc agcaaaaaag agaaaacatc gacatccggt 840
gatgatgccc gtgaagggtt gacggctgtt atctcagtga aagtgccgga tcctaaattc 900
tccagccaaa ctaaagacaa actggtttct tcagaagtga aatctgcggt tgaaccgcg 960
atgggtgaaa aattatcaga gtttctgatt gagaacccga atgaagccaa aattgtttgt 1020
tcgaaaatta ttgatgcagc gcgtgctcgt gaagcggctc gtaaagcgcg cgagatgaca 1080
cgtcgtaaag gcgcgttgga tctcgcgggt ctgccgggca aactggccga ctgtcaggaa 1140
aaagaccag cctttctga actatataat gtggagggtg actcggctgg tggctctgcc 1200
aaacaaggcc gaaaccggaa aaatcaggct attttgccgc tgaaaggtaa gatccttaac 1260
gttgaaaaag cccgctttga caaatgcta tcgtctcagg aagtagcaac attgattacc 1320
gcgttaggtt gcggcattgg ccgtgacgaa tataacccgg acaaaactgcg ctatcacat 1380
atcatcatc 1389

```

## 【0086】

```

<:210>: 30
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella flexneri, Shigella sonnei, Shige
lla boydii, E coli 0157, Enterobacter cloacae and Enterobacter aerogenes
<:400>: 30
caagaacaaa acgcc 15

```

## 【0087】

```

<:210>: 31
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella flexneri
<:400>: 31
attggcgttg aagtg 15

```

## 【0088】

```

<:210>: 32
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella boydii and Salmonella paratyphiA
<:400>: 32
cgatccatcc gaata 15

```

## 【0089】

<:210>: 33  
 <:211>: 17  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Shigella sonnei* and *Salmonella paratyphiA*  
 <:400>: 33  
 ttctccactg aaaaaga 37

## 【0090】

<:210>: 34  
 <:211>: 17  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphiA*,  
*Salmonella paratyphiB*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella chester*, *Salmo*  
*nella oranienburg* and *Salmonella typhimurium*  
 <:400>: 34  
 aacaagaata aaacgcc 17

## 【0091】

<:210>: 35  
 <:211>: 13  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella paratyphiB* and *Salmonella ente*  
*ritidis*  
 <:400>: 35  
 cggcgtcgaa gta 13

## 【0092】

<:210>: 36  
 <:211>: 13  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella chester*, *Sal*  
*monella oranienburg* and *Salmonella typhimurium*  
 <:400>: 36  
 cggcgtggaa gta 13

## 【0093】

<:210>: 37  
 <:211>: 19  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphiA*,  
*Salmonella paratyphiB* and *Salmonella oranienburg*  
 <:400>: 37  
 tgaatatctc aacaagaat 19

## 【0094】

<:210>: 38  
 <:211>: 17  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*  
 and *Salmonella aerogenes*  
 <:400>: 38  
 atcttctatt tctccac

17

## 【0095】

<:210>: 39  
 <:211>: 13  
 <:212>: DNA  
 <:213>: Artificial Sequence  
 <:220>:  
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi B*,  
*Salmonella enteritidis*, *Salmonella chester*, *Salmonella oranienburg*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0157 and *Enterobacter aerogenes*  
 <:400>: 39  
 acggtatcgg cgt

13

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 シゲラ属3種及びサルモネラ属6種のgyrB遺伝子内の領域の塩基配列を整列させて示す図である。

【図2】 図1の続きである。

【図3】 図3の続きである。

【図4】 シゲラ属3種、サルモネラ属7種、大腸菌0157、エルシニア属2種、エンテロバクター属2種及びビブリオ属4種のgyrB遺伝子内の領域の塩基配列を整列させて示す図である。

【図5】 図4の続きである。

【図6】 図5の続きである。

【図7】 図6の続きである。

【図8】 図7の続きである。

【図9】 図8の続きである。

【図10】 図9の続きである。

【図11】 図10の続きである。

【図12】 実施例4のDNAチップを用いた検査の結果（陽性スポットのパターン）を示す図である。

【図13】 実施例4のDNAチップを用いた検査の結果（陽性スポットのパターン）を示す図である。

【圖 1】

|                        |     |   |     |
|------------------------|-----|---|-----|
| Shigella flexneri      | 1   | GATAACTCTATAAAGTGTCGGCGGTCTGCACGGCGTTGGTGTTCGGGTAGTAAACGCC    | 60  |
| Shigella boydii        | 1   | .....   | 60  |
| Shigella sonnei        | 1   | .....   | 60  |
| Salmonella typhi       | 1   | .....C.....T.....G..G..C..C.....C.....T                       | 60  |
| Salmonella paratyphiA  | 1   | .....C.....T.....G..G..C..C.....T.....T                       | 60  |
| Salmonella typhimurium | 1   | .....C.....C.....G..C..C.....C.....T                          | 60  |
| Salmonella chester     | 1   | .....C.....C.....G..C..C.....C.....T                          | 60  |
| Salmonella enteritidis | 1   | .....C..T..T.....G..C..C.....C.....T                          | 60  |
| Salmonella oranienburg | 1   | .....C.....T.....G..C..C.....C.....T                          | 60  |
| *****                  |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 61  | CTGTCCGCAAAACTGGAGCTGTTTATTCACGGCGAGGGTAAATTACCGTCAGATCTAC    | 120 |
| Shigella boydii        | 61  | .....C.....   | 120 |
| Shigella sonnei        | 61  | .....C.....   | 120 |
| Salmonella typhi       | 61  | .....C.....A..T..C.....                                       | 120 |
| Salmonella paratyphiA  | 61  | .....A.....C.....A..T..C.....                                 | 120 |
| Salmonella typhimurium | 61  | .....A.....C.....A..T..C.....                                 | 120 |
| Salmonella chester     | 61  | .....A.....C.....A..T..C.....                                 | 120 |
| Salmonella enteritidis | 61  | .....A.....C.....A..T..C.....                                 | 120 |
| Salmonella oranienburg | 61  | .....A.....C.....A..T..C.....                                 | 120 |
| *****                  |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 121 | GAAACACGGTGTAACCGCAGGCTCCGCTGGCGGTTACCGGCGAGACTGAAAAACCGGCACC | 180 |
| Shigella boydii        | 121 | .....   | 180 |
| Shigella sonnei        | 121 | .....A..T.....  | 180 |
| Salmonella typhi       | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| Salmonella paratyphiA  | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| Salmonella typhimurium | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| Salmonella chester     | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| Salmonella enteritidis | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| Salmonella oranienburg | 121 | ..G....C..G.....A..C.....C..C..T...T..C..T.....G              | 180 |
| **.....**              |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 181 | ATGGTGCGTTTCTGGCCAGCCTCGAAACCTTCACCAATGTGACCGAGTTCGAATATGAA   | 240 |
| Shigella boydii        | 181 | .....   | 240 |
| Shigella sonnei        | 181 | .....   | 240 |
| Salmonella typhi       | 181 | .....A.....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G                   | 240 |
| Salmonella paratyphiA  | 181 | .....A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G                      | 240 |
| Salmonella typhimurium | 181 | .....A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G                      | 240 |
| Salmonella chester     | 181 | .....A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G                      | 240 |
| Salmonella enteritidis | 181 | .....A.....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G                   | 240 |
| Salmonella oranienburg | 181 | .....A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G                      | 240 |
| *****                  |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 241 | ATTCTGGCGAAACGTCGCGTGAGTTGTGTTCTCAACTCGGGCGTTTCCATTCTGCTG     | 300 |
| Shigella boydii        | 241 | .....   | 300 |
| Shigella sonnei        | 241 | .....   | 300 |
| Salmonella typhi       | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..                       | 300 |
| Salmonella paratyphiA  | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..                       | 300 |
| Salmonella typhimurium | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..                       | 300 |
| Salmonella chester     | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..                       | 300 |
| Salmonella enteritidis | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...T.....C..C..                       | 300 |
| Salmonella oranienburg | 241 | ..C.....C.....AC...A...G...A.....C..T..C..C..                 | 300 |
| **.....**              |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 301 | CGCGACAAAGCGTGACGCGCAAGAAGACCACTTCACTATGAAGGCGGCATCAAAGCGTTC  | 360 |
| Shigella boydii        | 301 | .....G.....   | 360 |
| Shigella sonnei        | 301 | .....C.....   | 360 |
| Salmonella typhi       | 301 | .....C..T.....T..T.....C.....G.....T                          | 360 |
| Salmonella paratyphiA  | 301 | .....C.....T..T.....C.....G..A..T                             | 360 |
| Salmonella typhimurium | 301 | .....C..T.....T..T.....C.....G.....T                          | 360 |
| Salmonella chester     | 301 | .....C..T.....T..T.....C.....G.....T                          | 360 |
| Salmonella enteritidis | 301 | .....C..T.....T..T.....C.....G.....T                          | 360 |
| Salmonella oranienburg | 301 | .....C..T.....T..T.....C.....G.....T                          | 360 |
| *****                  |     |   |     |
| Shigella flexneri      | 361 | GTTGAATATCTGAACAAGAAACAAACGCGATCCACCCAAATATCTTCTACTCTCCACC    | 420 |
| Shigella boydii        | 361 | .....T..G.....  | 420 |
| Shigella sonnei        | 361 | .....G.....   | 420 |
| Salmonella typhi       | 361 | .....C.....T.....G.....T.....                                 | 420 |
| Salmonella paratyphiA  | 361 | .....C.....T.....T.....G.....T.....                           | 420 |
| Salmonella typhimurium | 361 | .....T.....G.....T.....                                       | 420 |
| Salmonella chester     | 361 | .....T.....G.....   | 420 |
| Salmonella enteritidis | 361 | .....T.....G.....   | 420 |

【圖 2】

|                        |     |   |     |
|------------------------|-----|---|-----|
| Salmonella oranienburg | 361 | .....C.....T.....G.....                                     | 420 |
| Shigella flexneri      | 421 | GAAGAGACGGTATTGGCGTTGAAGTGGCGCTGCAGTGAACGATGGCTTCCAGGAAAA   | 480 |
| Shigella boydii        | 421 | .....C.....T.....   | 480 |
| Shigella sonnei        | 421 | .....C.....T.....   | 480 |
| Salmonella typhi       | 421 | .....C.....G.....A.....T.....                               | 480 |
| Salmonella paratyphiA  | 421 | .....C.....A.....C.....A.....T.....                         | 480 |
| Salmonella typhimurium | 421 | .....C.....G.....A.....T.....                               | 480 |
| Salmonella chester     | 421 | .....C.....G.....A.....T.....                               | 480 |
| Salmonella enteritidis | 421 | .....C.....A.....T.....T.....                               | 480 |
| Salmonella oranienburg | 421 | .....C.....G.....T.....                                     | 480 |
| Shigella flexneri      | 481 | ATCTACTGCTTTACCAACAACTTCGCAACGTCAGCGCGGTACTCACTGGCAGGCTTC   | 540 |
| Shigella boydii        | 481 | .....   | 540 |
| Shigella sonnei        | 481 | .....   | 540 |
| Salmonella typhi       | 481 | .....C.....   | 540 |
| Salmonella paratyphiA  | 481 | .....C.....T.....   | 540 |
| Salmonella typhimurium | 481 | .....C.....T.....   | 540 |
| Salmonella chester     | 481 | .....C.....   | 540 |
| Salmonella enteritidis | 481 | .....T.....   | 540 |
| Salmonella oranienburg | 481 | .....C.....   | 540 |
| Shigella flexneri      | 541 | CGTGCGCGGATGACCCGTACCTGAATGCCTACATGGACAAAGAGCTACAGCAAAAA    | 600 |
| Shigella boydii        | 541 | .....C.....   | 600 |
| Shigella sonnei        | 541 | .....C.....   | 600 |
| Salmonella typhi       | 541 | .....C.....G.....C.....                                     | 600 |
| Salmonella paratyphiA  | 541 | .....G.....C.....   | 600 |
| Salmonella typhimurium | 541 | .....G.....C.....   | 600 |
| Salmonella chester     | 541 | .....C.....G.....C.....                                     | 600 |
| Salmonella enteritidis | 541 | .....G.....C.....   | 600 |
| Salmonella oranienburg | 541 | .....C.....G.....C.....                                     | 600 |
| Shigella flexneri      | 601 | GCCAAAGTCAGCGCCACCGGTGACGATGCGCGTGAAGGCTGATTGCGGTGTTTCCGTA  | 660 |
| Shigella boydii        | 601 | .....T.....   | 660 |
| Shigella sonnei        | 601 | .....T.....   | 660 |
| Salmonella typhi       | 601 | .....C.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Salmonella paratyphiA  | 601 | .....C.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Salmonella typhimurium | 601 | .....C.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Salmonella chester     | 601 | .....T.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Salmonella enteritidis | 601 | .....T.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Salmonella oranienburg | 601 | .....C.....C.....T.....G.....                               | 660 |
| Shigella flexneri      | 661 | AAAGTGGCGGACCCGAAATTCTCTCCAGACCAAGACAACTGGTTTCTTCTGAGGTG    | 720 |
| Shigella boydii        | 661 | .....T.....   | 720 |
| Shigella sonnei        | 661 | .....   | 720 |
| Salmonella typhi       | 661 | .....A.....T.....G.....C.....C.....                         | 720 |
| Salmonella paratyphiA  | 661 | .....A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....             | 720 |
| Salmonella typhimurium | 661 | .....A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....             | 720 |
| Salmonella chester     | 661 | .....A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....             | 720 |
| Salmonella enteritidis | 661 | .....A.....T.....G.....G.....C.....C.....                   | 720 |
| Salmonella oranienburg | 661 | .....G.....G.....T.....G.....C.....C.....                   | 720 |
| Shigella flexneri      | 721 | AAATCGCGGTTGAACAGCAGATGAACGAACTGCTGGCGGAATACCTGCTGGAAACCCA  | 780 |
| Shigella boydii        | 721 | .....A.....   | 780 |
| Shigella sonnei        | 721 | .....A.....   | 780 |
| Salmonella typhi       | 721 | .....A.....AGC.....   | 780 |
| Salmonella paratyphiA  | 721 | .....G.....AGC.....   | 780 |
| Salmonella typhimurium | 721 | .....A.....AGC.....   | 780 |
| Salmonella chester     | 721 | .....A.....AGC.....   | 780 |
| Salmonella enteritidis | 721 | .....G.....AGC.....T.....                                   | 780 |
| Salmonella oranienburg | 721 | .....A.....T.....AGC.....                                   | 780 |
| Shigella flexneri      | 781 | ACTGATGCGAAATCGTGGTTGGCAAAATTATCGATGCTGCCCGTGCCCGTGAAGCGGCG | 840 |
| Shigella boydii        | 781 | .....C.....   | 840 |
| Shigella sonnei        | 781 | .....C.....   | 840 |
| Salmonella typhi       | 781 | .....C.....C.....C.....G.....G.....                         | 840 |
| Salmonella paratyphiA  | 781 | .....T.....C.....C.....C.....G.....G.....                   | 840 |
| Salmonella typhimurium | 781 | .....T.....C.....C.....C.....G.....G.....                   | 840 |
| Salmonella chester     | 781 | .....T.....C.....C.....C.....G.....G.....                   | 840 |
| Salmonella enteritidis | 781 | .....T.....C.....C.....C.....G.....G.....                   | 840 |
| Salmonella oranienburg | 781 | .....T.....C.....C.....C.....G.....G.....                   | 840 |

• • • • •

|                        |      |   |      |
|------------------------|------|---|------|
| Shigella flexneri      | 841  | CGTCCGCCGCTGAATGACCCGCCGTAAGGTCGCTCGACTTAGCTGGCTGCCGGGCC      | 980  |
| Shigella boydii        | 841  | .....G.....   | 980  |
| Shigella sonnei        | 841  | .....G.....   | 980  |
| Salmonella typhi       | 841  | .....C.....T.....C.....G.....T.....C.....T.....               | 980  |
| Salmonella paratyphiA  | 841  | .....C.....T.....C.....G.....T.....C.....T.....               | 980  |
| Salmonella typhimurium | 841  | .....C.....T.....C.....T.....C.....T.....                     | 980  |
| Salmonella chester     | 841  | .....C.....T.....C.....T.....C.....T.....                     | 980  |
| Salmonella enteritidis | 841  | .....CA.....T.....C.....G.....T.....G.....                    | 980  |
| Salmonella oranienburg | 841  | G.....C.....T.....C.....T.....C.....T.....                    | 980  |
|                        |      | *****   |      |
| Shigella flexneri      | 901  | AAACTGGCAGACTGCCAGGAACCGGATCCGGCGCTTTCCGAACGTACTGGTGGAAAGGG   | 960  |
| Shigella boydii        | 901  | .....   | 960  |
| Shigella sonnei        | 901  | .....   | 960  |
| Salmonella typhi       | 901  | .....G.....T.....T.....C.....G.....                           | 960  |
| Salmonella paratyphiA  | 901  | .....G.....C.....G.....                                       | 960  |
| Salmonella typhimurium | 901  | .....G.....T.....C.....G.....                                 | 960  |
| Salmonella chester     | 901  | .....G.....C.....G.....                                       | 960  |
| Salmonella enteritidis | 901  | .....G.....C.....G.....                                       | 960  |
| Salmonella oranienburg | 901  | .....G.....C.....G.....                                       | 960  |
|                        |      | *****   |      |
| Shigella flexneri      | 961  | GACTCCGCGGGCGGCTCTGCGGAAGCAAGGCGCTAACCGCAAGAACCAAGCGATTCTGCCG | 1020 |
| Shigella boydii        | 961  | .....   | 1020 |
| Shigella sonnei        | 961  | .....A.....   | 1020 |
| Salmonella typhi       | 961  | .....   | 1020 |
| Salmonella paratyphiA  | 961  | .....   | 1020 |
| Salmonella typhimurium | 961  | .....   | 1020 |
| Salmonella chester     | 961  | .....   | 1020 |
| Salmonella enteritidis | 961  | .....   | 1020 |
| Salmonella oranienburg | 961  | .....   | 1020 |
|                        |      | *****   |      |
| Shigella flexneri      | 1021 | CTGAAGGGTAAAACTCTTAACGTCGAGAAAGCGCGCTTCGATAAGATGCTCTCTTCTCAG  | 1080 |
| Shigella boydii        | 1021 | .....C.....T.....   | 1080 |
| Shigella sonnei        | 1021 | .....C.....T.....   | 1080 |
| Salmonella typhi       | 1021 | .....A.....C.....T.....C.....C.....                           | 1080 |
| Salmonella paratyphiA  | 1021 | .....A.....C.....C.....T.....C.....C.....                     | 1080 |
| Salmonella typhimurium | 1021 | .....A.....C.....C.....T.....C.....C.....                     | 1080 |
| Salmonella chester     | 1021 | .....A.....C.....C.....C.....C.....                           | 1080 |
| Salmonella enteritidis | 1021 | .....A.....C.....C.....C.....C.....                           | 1080 |
| Salmonella oranienburg | 1021 | .....C.....C.....C.....C.....                                 | 1080 |
|                        |      | *****   |      |
| Shigella flexneri      | 1081 | GAAGTGGCGACGCTTATCACCGCGCTGGCTGTGGTATCGGTCTGACGAGTACAACCCG    | 1140 |
| Shigella boydii        | 1081 | .....   | 1140 |
| Shigella sonnei        | 1081 | .....   | 1140 |
| Salmonella typhi       | 1081 | .....G.....G.....C.....C.....                                 | 1140 |
| Salmonella paratyphiA  | 1081 | .....G.....T.....G.....C.....C.....                           | 1140 |
| Salmonella typhimurium | 1081 | .....G.....G.....C.....C.....                                 | 1140 |
| Salmonella chester     | 1081 | .....G.....T.....G.....C.....C.....                           | 1140 |
| Salmonella enteritidis | 1081 | .....G.....G.....C.....C.....C.....                           | 1140 |
| Salmonella oranienburg | 1081 | .....T.....G.....A.....G.....C.....C.....                     | 1140 |
|                        |      | *****   |      |
| Shigella flexneri      | 1141 | GACAAACTGGCTTATCACGGAATCATCATCATG                             | 1173 |
| Shigella boydii        | 1141 | .....   | 1173 |
| Shigella sonnei        | 1141 | .....   | 1173 |
| Salmonella typhi       | 1141 | .....G.....C.....   | 1173 |
| Salmonella paratyphiA  | 1141 | .....G.....C.....   | 1173 |
| Salmonella typhimurium | 1141 | .....G.....C.....   | 1173 |
| Salmonella chester     | 1141 | .....G.....C.....   | 1173 |
| Salmonella enteritidis | 1141 | .....G.....C.....   | 1173 |
| Salmonella oranienburg | 1141 | .....C.....T.....   | 1173 |
|                        |      | *****   |      |

【圖 4】

|                          |   |  |    |
|--------------------------|---|--|----|
| <i>S. flexneri</i>       | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. sonnei</i>         | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. boydii</i>         | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. typhi</i>          | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. paratyphila</i>    | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. paratyphilaB</i>   | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. chester</i>        | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1 | -----  | 1  |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1 | -----  | 1  |
| <i>E. coli</i> O157      | 1 | -----  | 1  |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1 | -----  | 1  |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1 | -----  | 1  |
| <i>E. cloacae</i> #P1    | 1 | -----  | 1  |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1 | -----  | 1  |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 1 | -----  | 1  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1 | ACGGACGACGGCACTGGCTTCACCACATGGTCTTCGAGGTGCTCGATAACTCAATTGAT  | 60 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1 | ACTGATGATGGCACCGGCTACACCACATGGTCTTTGAGGTGCTGGATAACTCAATTAGAT | 60 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1 | -----GGTACGGGCTTCACCACATGGTCTTTGAGGTGGTAGATAACTCAATTGAT      | 51 |

|                          |    |  |     |
|--------------------------|----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. sonnei</i>         | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. boydii</i>         | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. typhi</i>          | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. paratyphila</i>    | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. paratyphilaB</i>   | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. chester</i>        | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1  | -----  | 1   |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1  | -----  | 1   |
| <i>E. coli</i> O157      | 1  | -----  | 1   |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1  | -----  | 1   |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1  | -----  | 1   |
| <i>E. cloacae</i>        | 1  | -----  | 1   |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1  | -----  | 1   |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 1  | -----  | 1   |
| <i>V. campbellii</i>     | 61 | GAAGCGTTGGCAGGTCACTGTAAAGACATCGTTGTGACAATTCATGAGGACAACTCGGTT | 120 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 61 | GAAGCGTTAGCAGGTCACTGTAAAGACATCATCGTTACTATTACGGAAGATAACTCAGTA | 120 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 52 | GAAGCGTTAGCAGGTCACTGTAAAGATATCATCGTGACGATTCACGAAGATAACTCCGTC | 111 |

|                          |     |   |     |
|--------------------------|-----|---|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. sonnei</i>         | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. boydii</i>         | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. typhi</i>          | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. paratyphila</i>    | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. paratyphilaB</i>   | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. chester</i>        | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1   | -----   | 1   |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1   | -----   | 1   |
| <i>E. coli</i> O157      | 1   | -----   | 1   |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1   | -----   | 1   |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1   | -----   | 1   |
| <i>E. cloacae</i>        | 1   | -----   | 1   |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1   | -----   | 1   |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 1   | -----   | 1   |
| <i>V. campbellii</i>     | 121 | TCAGTTACGGATGATGGACGTGGCATTCACAGAAATGCACCCAGAGAAAACGTATCT   | 180 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 121 | TCGGTTAGCGATGACGGCCGTGGTATCCCAACTGAACTGCACGAGAGAAAATGTTTCT  | 180 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 112 | TCAGTCAGTGATGACGGGTCTGGGTATTCGACTGAGCTTCACGAGGAGAAAATGTGTCT | 171 |

【図5】

|                   |     |   |     |
|-------------------|-----|---|-----|
| S. flexneri       | 1   | -----CGATAACTCCTAT  | 13  |
| S. sonnei         | 1   | -----   | 13  |
| S. boydii         | 1   | -----   | 13  |
| S. typhi          | 1   | -----   | 13  |
| S. paratyphiA     | 1   | -----   | 13  |
| S. paratyphiB     | 1   | -----   | 13  |
| S. enteritidis    | 1   | -----   | 13  |
| S. chester        | 1   | -----   | 13  |
| S. oranienburg    | 1   | -----   | 13  |
| S. typhimurium    | 1   | -----   | 13  |
| E. coli O157      | 1   | -----   | 13  |
| Y. enterocolitica | 1   | -----G..C   | 13  |
| Y. ruckeri        | 1   | -----   | 1   |
| E. cloacae        | 1   | -----   | 13  |
| E. aerogenes      | 1   | -----T.....   | 13  |
| V. alginolyticus  | 1   | -----A..C   | 12  |
| V. campbellii     | 181 | GCTGCAGAAAGTTATCATGACGGTACTTCACGCTGGTGGTAAGTTCGAT.....T..A..C | 240 |
| V. diazotrophicus | 181 | GCGGCAGAAAGTTATCATGACAGTACTGCACGCTGGTGGTAAGTTCGAT.....T..C    | 240 |
| V. gazogenes      | 172 | GCGGCAGAAAGTTATCATGACAGTCTGTCACGCGAGCGGGAATTGA.....G..C       | 231 |

|                   |     |  |     |
|-------------------|-----|--|-----|
| S. flexneri       | 14  | AAAGTGTCGGCGGTCTGCACGGCGTTCGTGTTTCGGTACTAAACGCCCTGTTCGCAAAAA | 73  |
| S. sonnei         | 14  | -----  | 73  |
| S. boydii         | 14  | -----  | 73  |
| S. typhi          | 14  | ....C....T.....G..G..C..C.....C....T.....                    | 73  |
| S. paratyphiA     | 14  | ....C....T.....G..C..C.....T.....T.....                      | 73  |
| S. paratyphiB     | 14  | ....C....T.....G..C..C.....C....T.....                       | 73  |
| S. enteritidis    | 14  | ....C..T..T.....G..C..C.....C....T.....                      | 73  |
| S. chester        | 14  | ....C....T.....G..C..C.....C....T.....                       | 73  |
| S. oranienburg    | 14  | ....C....T.....G..C..C.....C....T.....                       | 73  |
| S. typhimurium    | 14  | ....C....T.....G..C..C.....C....T.....                       | 73  |
| E. coli O157      | 14  | -----  | 73  |
| Y. enterocolitica | 14  | ....T....T....T.....A....A..C..T..T.....TG....               | 73  |
| Y. ruckeri        | 1   | -----GT....T.....G..A..A..T..T.....TG....                    | 51  |
| E. cloacae        | 14  | ....T.....C.....A.....G..G                                   | 73  |
| E. aerogenes      | 14  | ....A..G..T....T....G..A.....A..C..C.....G..T.....           | 73  |
| V. alginolyticus  | 13  | ....A..G..T....T....G..A.....A..A..AG..G...                  | 72  |
| V. campbellii     | 241 | ....A..A.....A.....A.....A.....TG..G...                      | 300 |
| V. diazotrophicus | 241 | ....A..A..T.....T....A.....G..A..G..T....A..A..AG....        | 300 |
| V. gazogenes      | 232 | ....T....T....T....T..T..G..A..C.....C..G....TT....TG....G   | 291 |

|                   |     |  |     |
|-------------------|-----|--|-----|
| S. flexneri       | 74  | CTGGAGCTGGTTATTCAGCGCGAGGGTAAAAATTCACCGTCAGATCTACGAACACGGTGT   | 133 |
| S. sonnei         | 74  | -----C.....  | 133 |
| S. boydii         | 74  | -----C.....  | 133 |
| S. typhi          | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. paratyphiA     | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. paratyphiB     | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. enteritidis    | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. chester        | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. oranienburg    | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| S. typhimurium    | 74  | ....A.....C....A..T..C.....G....C..G                           | 133 |
| E. coli O157      | 74  | -----  | 133 |
| Y. enterocolitica | 74  | ....G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..GATG....G            | 133 |
| Y. ruckeri        | 52  | ....T....G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..ATG....G        | 111 |
| E. cloacae        | 74  | ....T....G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..ATG....G        | 133 |
| E. aerogenes      | 74  | ....T....G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..ATG....G        | 133 |
| V. alginolyticus  | 73  | G..T....AACG....T..T..GT..CC..T..C..TACG..A..C....CGC..T....AG | 132 |
| V. campbellii     | 301 | G...TT...AC...C...C...GC...C..T..C..TACG..A..C....CGC..T....AG | 360 |
| V. diazotrophicus | 301 | G..CTT...AC...T..C...GT...C..C..C..TAC...A..C....TCGC..T....G  | 360 |
| V. gazogenes      | 292 | G..T..CC...ACA...T..T..TAGT..CC..C...T..TAC...CT..TC..T.....G  | 351 |



【圖 6】

|                          |     |   |     |
|--------------------------|-----|---|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 134 | CCGCAGGCTCCGCTGGCGTTACCGGCGAGACTGAAAAAACCGGCACCATGGTGGGTTTC | 193 |
| <i>S. sonnei</i>         | 134 | .....A...T.....   | 193 |
| <i>S. boydii</i>         | 134 | .....   | 193 |
| <i>S. typhi</i>          | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. chester</i>        | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 134 | .....A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....          | 193 |
| <i>E. coli</i> O157      | 134 | .....A.....   | 193 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 134 | .....A..AT..AAA..GGTG.....A..C..TC.....G..A..CC.....        | 193 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 112 | .....A..A..A..AAAA..GGTG..T..A..C..TC..G.....G..T..C.....   | 171 |
| <i>E. cloacae</i>        | 134 | .....A.....C.....T.....A..C..C.....T.....                   | 193 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 134 | .....A.....A.....T..A..C.....GC.....T.....                  | 193 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 133 | ..T..A..G..A..A..C..GFG..T..T..G..T.....T..ACAAA..T.....    | 192 |
| <i>V. campbellii</i>     | 361 | ..T..A..G..A..A..A..AT..T..T.....G..T..ACAAA..C.....        | 420 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 361 | ..T..A..G..A..AAGC..GTF..T..T.....A..T..A..C..T.....        | 420 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 352 | ..A...T..A..AT...TTCCGTA..A..T..C.....GT...A...C...C..G...  | 411 |

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 194 | TGGCCAGCCTCGAACCTTCACCAATGTGACCGAGTTCGAATATGAAAFTCTGGCGAAA | 253 |
| <i>S. sonnei</i>         | 194 | .....  | 253 |
| <i>S. boydii</i>         | 194 | .....  | 253 |
| <i>S. typhi</i>          | 194 | .....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....              | 253 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 194 | .....G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....                 | 253 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 194 | .....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....              | 253 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 194 | .....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....              | 253 |
| <i>S. chester</i>        | 194 | .....G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....                 | 253 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 194 | .....G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....                 | 253 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 194 | .....G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....                 | 253 |
| <i>E. coli</i> O157      | 194 | .....  | 253 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 194 | .....G...T..C..G..S.....AAT.....A...C.....C...A...         | 253 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 172 | .....G...T..C..G.....AAC.....A..TC.....C.....              | 231 |
| <i>E. cloacae</i>        | 194 | .....G.....C..C.....G..C..C..C.....                        | 253 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 194 | .....A.....G.....T.....C..C..T..A.....C.....C.....         | 253 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 193 | ....A..TGC....G..G...T..T..CACTGAGTTCCA---...C.....        | 249 |
| <i>V. campbellii</i>     | 421 | ....A..TGCA....A...T..G..CACAGAA7---TC..C..C..C..A....G    | 477 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 421 | ....A..TGCT..C.....T.....A..CGAA7---C..T..C..T.....T..T... | 477 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 412 | .....G..TAGT.....T.....A..TGAA7---C..T.....T..C...         | 468 |

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 254 | CGTCGCGTGAGTTGTCCTTCCTCAACTCCGGCGTTTCATTCTGCGCGACAAGCGT    | 313 |
| <i>S. sonnei</i>         | 254 | .....C   | 313 |
| <i>S. boydii</i>         | 254 | .....  | 313 |
| <i>S. typhi</i>          | 254 | ..C.....AC...A.....G.....A.....C..C.....C                  | 313 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 254 | ..C.....AC...A.....G.....T.....C..C.....C                  | 313 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 254 | ..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C               | 313 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 254 | ..C.....AC...A.....G.....T.....C..C.....C                  | 313 |
| <i>S. chester</i>        | 254 | ..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C               | 313 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 254 | ..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C               | 313 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 254 | ..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C               | 313 |
| <i>E. coli</i> O157      | 254 | .....  | 313 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 254 | .....C.....G.....T..G.....A..CAAG...AAA.....A...           | 313 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 232 | ..CT.....C.....G.....A..CAAA...AAA.....A...                | 291 |
| <i>E. cloacae</i>        | 254 | ..C.....AC...A.....C.....C..G.....C.....A..C               | 313 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 254 | .....C.....C.....G..C..T..C..C.....T.....C                 | 313 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 250 | ..C.....AC...A.....G.....T..T..G..G..CAAA7..GTF..TG..A...  | 309 |
| <i>V. campbellii</i>     | 478 | ....A.....AC..T..C.....G.....T..T.....A..CAAA...GTF..TG..C | 537 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 478 | ....A.....C..T..A.....A.....A..A..CAAA...ATT..TG....       | 537 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 469 | ..C.....T.....T.....T.....A..CAAA..CATT..TG..A...          | 528 |

【圖 7】

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 314 | GACGGCAAAGAAGACCA---CTTCCACTATGAAGCGCGCATCAAAGCGTTCGTTGAATAT | 370 |
| <i>S. sonnei</i>         | 314 | .....G.....  | 370 |
| <i>S. boydii</i>         | 314 | .....G.....  | 370 |
| <i>S. typhi</i>          | 314 | ..T.....T....T.....C.....T.....                              | 370 |
| <i>S. paratyphiiA</i>    | 314 | .....T....T.....C.....G...A...T.....                         | 370 |
| <i>S. paratyphiiB</i>    | 314 | .....T....T.....C.....G...T.....                             | 370 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 314 | ..T.....T....T.....C.....G...T.....                          | 370 |
| <i>S. chester</i>        | 314 | ..T.....T....T.....C.....G...T.....                          | 370 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 314 | ..T.....T....T.....C.....G...T.....                          | 370 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 314 | ..T.....T....T.....C.....G...T.....                          | 370 |
| <i>E. coli O157</i>      | 314 | .....  | 370 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 314 | A...A.....T...C.....T.....T...G...                           | 370 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 292 | A...A.....T...C.....T.....T...G...                           | 348 |
| <i>E. cloacae</i>        | 314 | ...AA.....C.....T.....G...T...G...                           | 370 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 314 | .....T.....C.....G...T...G...                                | 370 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 310 | ..A.CGG.CA..C.TG.TCA...ATG.....T..T..TC.....TC.C             | 369 |
| <i>V. campbellii</i>     | 538 | ..A.CAG.CA.GAG.G.CCA...ATG.T.....T..T..C.....GC.C            | 597 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 538 | ..A.AAG.TA..C.AG.CCA...TATG.....T..T..C.....ACTC.C           | 597 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 529 | ..TA.....C.G..T....AGG.....T..TC.G.AA...ATCGC.C              | 585 |

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 371 | CTGAACAAGAACAAACGCCGATCCACCCAAATATCTTCCTCTCCACCGAAAAAGAC | 430 |
| <i>S. sonnei</i>         | 371 | .....G.....T.....  | 430 |
| <i>S. boydii</i>         | 371 | .....T...G.....  | 430 |
| <i>S. typhi</i>          | 371 | ..C.....T.....G.....T.....                               | 430 |
| <i>S. paratyphiiA</i>    | 371 | ..C.....T.....T...G.....T.....                           | 430 |
| <i>S. paratyphiiB</i>    | 371 | ..C.....T.....G.....                                     | 430 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 371 | .....T.....G.....  | 430 |
| <i>S. chester</i>        | 371 | .....T.....G.....  | 430 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 371 | ..C.....T.....G.....                                     | 430 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 371 | .....T.....G.....T.....                                  | 430 |
| <i>E. coli O157</i>      | 371 | .....  | 430 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 371 | .....A.....AC.....G..AG.G.....T.....ATG.....T            | 430 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 349 | .....A.....C.....T...G..AG.G.....T.....TATG.....T        | 408 |
| <i>E. cloacae</i>        | 371 | .....T.....G.....  | 430 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 371 | ..C.....G.....T.....                                     | 430 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 370 | ..A...CC.....A..AT.GA..A.....C....TAA.T..T..GCGT..A      | 429 |
| <i>V. campbellii</i>     | 598 | ..A...CT.....A..A..AT.GAG..A.....C....GA.TTT..GCGC..A    | 657 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 598 | ..T...CGC.....T...T..TGAG..AG.G...C....TAA.T.A...CGT..A  | 657 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 586 | .....CGC..T....A.....TGACCG.G.....C....TAATCAG..GCGG..A  | 645 |

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 431 | GGTATTGGCGTT---GAAATGGCGCTGCAGTGGAAACGATGGCTTCCAGGAAACATCTAC | 487 |
| <i>S. sonnei</i>         | 431 | .....C---.....T.....   | 487 |
| <i>S. boydii</i>         | 431 | .....C---.....T.....   | 487 |
| <i>S. typhi</i>          | 431 | .....C....G---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>S. paratyphiiA</i>    | 431 | .....C....A.C---.....A.....T.....                            | 487 |
| <i>S. paratyphiiB</i>    | 431 | .....C....C---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 431 | .....C....C---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>S. chester</i>        | 431 | .....C....G---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 431 | .....C....G---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 431 | .....C....G---.....A.....T.....                              | 487 |
| <i>E. coli O157</i>      | 431 | .....C....   | 487 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 431 | ..A...C..T..G---.....AT.....T.....T..T...                    | 487 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 409 | AC...C..T..G---.....CT.....T.....A...T..T...                 | 465 |
| <i>E. cloacae</i>        | 431 | ..C..C....G---.....C..T.....                                 | 487 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 431 | .....C....   | 487 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 430 | ACGGCATTTTCAGTT.....A...A.....T.....A..G.....T               | 489 |
| <i>V. campbellii</i>     | 658 | ..A.GGCAT.TCGGTA.....T...A.....T..C...T.....A..G.....        | 717 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 658 | ACGG.ATTAGCGTT.....A...A.....C...T.....A...GGT...T...        | 717 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 646 | ..A.GGCATTACGCTT.....C..AA.....T...CA.T..T.....GT...T.T.     | 705 |

【図8】

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 488 | TGCTTTACCAACACATTCGCGAGGTGACGGCGGTACTCACCTGGCAGGCTTCCGTGCG | 547 |
| <i>S. sonnei</i>         | 488 | .....  | 547 |
| <i>S. boydii</i>         | 488 | .....  | 547 |
| <i>S. typhi</i>          | 488 | .....C.....  | 547 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 488 | .....C.....  | 547 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 488 | .....C.....T.....  | 547 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 488 | .....C.....  | 547 |
| <i>S. chester</i>        | 488 | .....C.....T.....  | 547 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 488 | .....C.....  | 547 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 488 | .....C.....T.....  | 547 |
| <i>E. coli</i> O157      | 488 | .....  | 547 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 488 | ..T..C.....A.....C..T..G..S.....T..A..TC..G.....A..        | 547 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 486 | .....A.....C..T.....C..TT.....TT..T.....A..                | 525 |
| <i>E. cloacae</i>        | 488 | .....A.....T.....T..T.....                                 | 547 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 488 | .....C.....  | 547 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 490 | .....T..C..A.....T..T.....T..T..T.....T                    | 549 |
| <i>V. campbellii</i>     | 718 | ..T.....T.....C..A..A.....T.....T..C..T.....               | 777 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 718 | .....C..A.....T..T.....T..A..C..T.....A                    | 777 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 706 | .....T.....T.....T.....G..G..A.....T..T.....G..            | 765 |

|                          |     |  |     |
|--------------------------|-----|--|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 548 | GCGATGACCCGTACCCGTAATGCCTACATGGACAAAGAGGCTACAGCAAAAAGCCAAA | 607 |
| <i>S. sonnei</i>         | 548 | .....C.....  | 607 |
| <i>S. boydii</i>         | 548 | .....C.....  | 607 |
| <i>S. typhi</i>          | 548 | .....C..G.....C.....                                       | 607 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 548 | .....G.....C.....  | 607 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 548 | .....C..G.....C.....                                       | 607 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 548 | .....G.....C.....  | 607 |
| <i>S. chester</i>        | 548 | .....C..G.....C.....T..                                    | 607 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 548 | .....C..G.....C.....                                       | 607 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 548 | .....G.....C.....  | 607 |
| <i>E. coli</i> O157      | 548 | .....  | 607 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 548 | .....T.....AG.....T.....T.....T.....G.....                 | 607 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 526 | .....G.....G.....CAG...T.....T.....G.....G                 | 585 |
| <i>E. cloacae</i>        | 548 | .....C.....G.....G.....                                    | 607 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 548 | .....C.....T.....G.....G.....                              | 607 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 550 | ...C..A..A.....AT...CAG...TT...T.....T..TCG..G.....G..     | 609 |
| <i>V. campbellii</i>     | 778 | ...C..A..G.....A.....CT..T..T.....T..TCT..G.....G..        | 837 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 778 | ...T..A..T.....GT..A..CA.....T.....G.....                  | 837 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 766 | ..AT...T..G..G.....CA..G..T.....T.....AG...                | 825 |

|                          |     |   |     |
|--------------------------|-----|---|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 608 | GTCAGTGCCACCGGTGACGATGCCCGTGAAGGCGCTGATTGCGGTCTTCCGTAAAAGTG | 667 |
| <i>S. sonnei</i>         | 608 | ..T.....G.....  | 667 |
| <i>S. boydii</i>         | 608 | .....T.....   | 667 |
| <i>S. typhi</i>          | 608 | .....C.....C.....T.....G.....                               | 667 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 608 | .....C.....C.....T.....G.....A                              | 667 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 608 | .....C.....C.....T.....G.....A                              | 667 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 608 | .....T..C.....C.....T.....G.....A                           | 667 |
| <i>S. chester</i>        | 608 | .....C..T.....C.....T.....G.....A                           | 667 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 608 | .....C.....C.....T.....G.....G..G..                         | 667 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 608 | .....C.....C.....T.....G.....G..G..                         | 667 |
| <i>E. coli</i> O157      | 608 | .....   | 667 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 608 | A.....T..A.....T.....C.....T.....T..G.....G.....            | 667 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 586 | A.....T.....T..G.....C.....C..G..A..G..T.....               | 645 |
| <i>E. cloacae</i>        | 608 | .....T.....C.....C.....G.....G..C.....                      | 667 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 608 | .....T.....C.....C.....G.....G.....                         | 667 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 610 | ACAGCGA..TT..A..C.....T..A..C.....T.....G.....              | 660 |
| <i>V. campbellii</i>     | 838 | ACAGCAA..GT..T.....T..C.....T..A..C.....T.....A..T.....     | 897 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 838 | CAGC..AA..AT..T.....TT.....C.....A..T..C..G..T.....T        | 897 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 826 | ACATCGA..AT.....T.....C.....GT...CG..T..TA..C..A..G.....    | 885 |

【圖 9】

|                          |     |   |     |
|--------------------------|-----|---|-----|
| <i>S. flexneri</i>       | 668 | CCGGAACCCGAAATTCCTCCAGACCAAGACAACTGGTTTCTTCGAGGTGAAATCG   | 727 |
| <i>S. sonnei</i>         | 668 | .....A  | 727 |
| <i>S. boydii</i>         | 668 | .....T  | 727 |
| <i>S. typhi</i>          | 668 | .....A.....T.....G.....C.....C.....                       | 727 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 668 | .....T.....A.....T.....G.....C.....C.....                 | 727 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 668 | .....T.....A.....T.....G.....C.....C.....                 | 727 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 668 | .....G.....C.....C.....                                   | 727 |
| <i>S. chester</i>        | 668 | .....A.....T.....G.....C.....C.....                       | 727 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 668 | .....G.....T.....G.....C.....C.....                       | 727 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 668 | .....T.....A.....T.....G.....C.....C.....                 | 727 |
| <i>E. coli O157</i>      | 668 | .....   | 727 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 668 | ..A.....T.....A.....T.....A.....A..T                      | 727 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 646 | .....T.....T.....A.....T.....T.....G.....C.....A.....A..C | 705 |
| <i>E. cloacae</i>        | 668 | .....T.....G.....A.....G.....C.....C.....                 | 727 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 668 | .....T.....G.....T.....T.....G.....C.....C.....           | 727 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660 | -----   | 660 |
| <i>V. campbellii</i>     | 898 | ..A..T.....G.....TAG...A..G.....A.....G..A                | 957 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 898 | .....T..A.....AAG...A.....A.....T                         | 957 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 886 | .....T..T.....AG...A..T.....A.....A.....T                 | 945 |

|                          |     |  |      |
|--------------------------|-----|--|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 728 | GCGGTTGAACAGCAGATGAACGAAGCTGCTGGCGGAATACCTGCTGGAAAACCCAACTGAT      | 787  |
| <i>S. sonnei</i>         | 728 | .....A.....C.....C   | 787  |
| <i>S. boydii</i>         | 728 | .....A.....C.....C   | 787  |
| <i>S. typhi</i>          | 728 | .....A.....AGC.....T.....C   | 787  |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 728 | .....G.....AGC.....T.....C   | 787  |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 728 | .....A.....AGC.....T.....C   | 787  |
| <i>S. enteritidis</i>    | 728 | .....G.....AGC.....T.....C   | 787  |
| <i>S. chester</i>        | 728 | .....A.....T.....AGC.....T.....C                                   | 787  |
| <i>S. oranienburg</i>    | 728 | .....A.....T.....AGC.....T.....C                                   | 787  |
| <i>S. typhimurium</i>    | 728 | .....A.....T.....AGC.....T.....C                                   | 787  |
| <i>E. coli O157</i>      | 728 | .....T.....  | 787  |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 728 | .....C.....AC...T.....GAA...TT...G...TT.....C...C                  | 787  |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 706 | .....AC...T.....GAA...T...TC...G...TT.....GC...C                   | 765  |
| <i>E. cloacae</i>        | 728 | .....G.....AGC.....GT...C...C                                      | 787  |
| <i>E. aerogenes</i>      | 728 | .....AGC.....GT...C...   | 787  |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660 | -----  | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 958 | .....TCAGCA...GGT...GAAA...T...T...G...T...A...T...G...G...A...A   | 1017 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 958 | ..A.....TCTGCA...GG...GAAA...TAAC...G...T...AGCT...GC...T...TT...A | 1017 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 946 | .....ACCGC...GGT...AAAT...AT...A...G...TT...A...T...G...G...A...A  | 1005 |

|                          |      |  |      |
|--------------------------|------|--|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 788  | GCGAAAATCGTGGTTGGCAAAATTATCGATGCTGCCCGTGGCCGTAAGCGGCGCTCGC   | 847  |
| <i>S. sonnei</i>         | 788  | .....  | 847  |
| <i>S. boydii</i>         | 788  | .....  | 847  |
| <i>S. typhi</i>          | 788  | .....C...C.....C...C...G...G.....                            | 847  |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 788  | .....T...C...C.....C...C...G...G.....                        | 847  |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 788  | .....T...C...C.....C...C...G...G.....                        | 847  |
| <i>S. enteritidis</i>    | 788  | .....T...C...C.....C...C...G...G.....                        | 847  |
| <i>S. chester</i>        | 788  | .....T...C...C.....T.....C...G...G.....                      | 847  |
| <i>S. oranienburg</i>    | 788  | .....T...C...C.....C...C...G...G.....                        | 847  |
| <i>S. typhimurium</i>    | 788  | .....C...C.....C...C...G...G.....                            | 847  |
| <i>E. coli O157</i>      | 788  | .....  | 847  |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 788  | .....C.....T...C...G.....T.....T.....AAA                     | 847  |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 766  | ..C.....C.....G...T.....G...T...C...T.....T...A...CAAA       | 825  |
| <i>E. cloacae</i>        | 788  | .....G.....T.....G...G.....AAA                               | 847  |
| <i>E. aerogenes</i>      | 788  | .....C.....C...C...G...G.....C.....                          | 847  |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | -----  | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1018 | .....G...G...TTG.TCG.....C.....C...A...T.....T.....T.....AAA | 1077 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1018 | ..A.....G...TG.A.....G...A.....A.....A.....AAA               | 1077 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1006 | ..C.....T...TTG.TCG.....T.....A...G...T.....T.....T.....AAA  | 1065 |

【図10】

|                          |      |  |      |
|--------------------------|------|--|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 848  | CGCGCTGAAATGACCCGCCGTAAAGGTGCGCTGACTTAGCTGGCCTGCCCGGCAAACTG  | 907  |
| <i>S. sonnei</i>         | 848  | .....G.....  | 907  |
| <i>S. boydii</i>         | 848  | .....C.....  | 907  |
| <i>S. typhi</i>          | 848  | ..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....                       | 907  |
| <i>S. paratyphila</i>    | 848  | ..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....                       | 907  |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 848  | ..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....                       | 907  |
| <i>S. enteritidis</i>    | 848  | ..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....                       | 907  |
| <i>S. chester</i>        | 848  | ..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....                       | 907  |
| <i>S. oranienburg</i>    | 848  | ..C.....T.....C.....T.....C..T.....                          | 907  |
| <i>S. typhimurium</i>    | 848  | ..C.....T.....C.....T.....C..T.....                          | 907  |
| <i>E. coli O157</i>      | 848  | .....G.....  | 907  |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 848  | ..T.....A.....A..C..T..G.....T..A..A.....                    | 907  |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 826  | ..C.....G..T.....G..AT..G..7C..C..C..T.....T.....GT..        | 885  |
| <i>E. cloacae</i>        | 848  | ..C.....T.....C.....G.....C.....G.....                       | 907  |
| <i>E. aerogenes</i>      | 848  | ..C.....T.....C.....T.....C..G..A.....                       | 907  |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | .....  | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1078 | ..T.....T.....T.....C..T..A.....C.....A..T..A..A.....T       | 1137 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1078 | ..T.....G.....T.....C.....T..G.....C..T.....T..T..A..T.....T | 1137 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1066 | .....C..G.....A..T.....C.....T..G..TC..C..G..T.....          | 1125 |

|                          |      |   |      |
|--------------------------|------|---|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 908  | GCAGACTGCCAGGAACGCGATCCGCCGCTTTCCGAACGTGTACCTGGTGGAGGGGACTCC    | 967  |
| <i>S. sonnei</i>         | 908  | .....   | 967  |
| <i>S. boydii</i>         | 908  | .....   | 967  |
| <i>S. typhi</i>          | 908  | ..G..T..T.....C.....G.....                                      | 967  |
| <i>S. paratyphila</i>    | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>S. enteritidis</i>    | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>S. chester</i>        | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>S. oranienburg</i>    | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>S. typhimurium</i>    | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>E. coli O157</i>      | 908  | ..G.....C.....G.....  | 967  |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 908  | ..T.....T.....T..C..A..AT..G.....C.....T..A.....A               | 967  |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 886  | ..G.....T.....AT..A..T.....T.....A.....G                        | 945  |
| <i>E. cloacae</i>        | 908  | ..T.....C.....C.....  | 967  |
| <i>E. aerogenes</i>      | 908  | ..G..T.....C.....G..T.....C.....                                | 967  |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | .....   | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1138 | .....T.....AAA.....T..A..C..T.....A..A.....G..T..T..G           | 1197 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1138 | ..T.....T.....AAA.....T..A..G..T.....A..A.....G..T.....T        | 1197 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1126 | ..C.....T.....AAA.....C..A..C.....T.....A..TA..T.....G..T.....G | 1185 |

|                          |      |   |      |
|--------------------------|------|---|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 968  | CGCGCTGCTCTGCGAAGCAGGGGCGTAACCGCAAGACCGGCGATTCTGCCGCTGAAG | 1027 |
| <i>S. sonnei</i>         | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. boydii</i>         | 968  | .....   | 1027 |
| <i>S. typhi</i>          | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. paratyphila</i>    | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. chester</i>        | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>E. coli O157</i>      | 968  | .....A.....   | 1027 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 968  | .....A..A..C.....T..A..T.....T.....T.....A                | 1027 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 946  | .....A..G..A..A..A..C.....T.....T.....A.....A             | 1003 |
| <i>E. cloacae</i>        | 968  | .....T.....C.....   | 1027 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 968  | .....A.....C.....T.....T.....C.....                       | 1027 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | .....   | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1198 | ..A.....C..A..A..A..C.....T.....A..A..C..A.....A..A       | 1257 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1198 | ..T.....T..A..T.....A.....A.....A.....T.....A             | 1257 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1186 | ..T..T.....C..A..A..C..A.....G..A..T.....T.....T.....A    | 1245 |

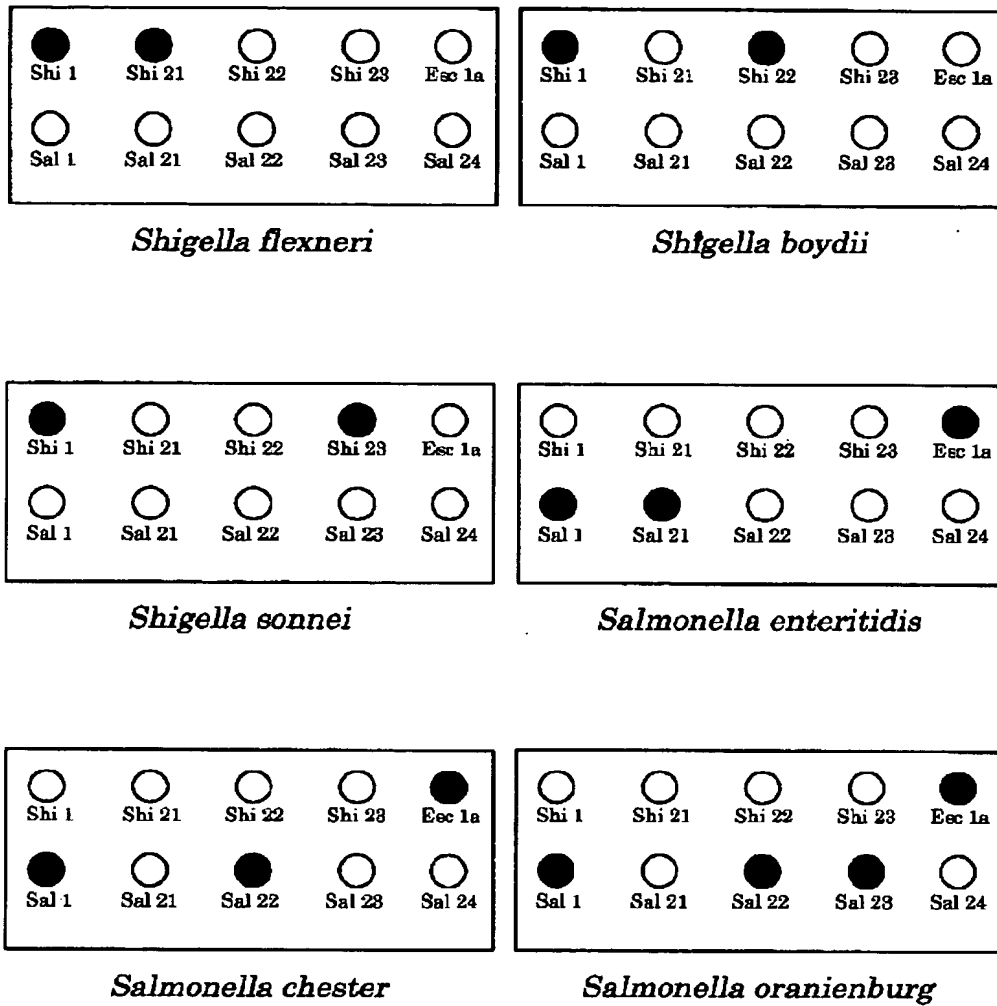
【図11】

|                          |      |   |      |
|--------------------------|------|---|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 1028 | GGTAAATCCTTAACGTCGAGAAAGCGCGCTTCCATTAAGATGCTCTCTCTCAGGAAGTG | 1087 |
| <i>S. sonnei</i>         | 1028 | .....C.....T.....   | 1087 |
| <i>S. boydii</i>         | 1028 | .....C.....T.....   | 1087 |
| <i>S. typhi</i>          | 1028 | .....C.....T..C..C.....                                     | 1087 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 1028 | .....C.....C.....C.....                                     | 1087 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 1028 | .....C.....T..C..C.....                                     | 1087 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1028 | .....C.....C.....C.....                                     | 1087 |
| <i>S. chester</i>        | 1028 | .....C.....C.....C.....                                     | 1087 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1028 | .....C.....C.....C.....                                     | 1087 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1028 | .....C.....T..C..C.....                                     | 1087 |
| <i>E. coli O157</i>      | 1028 | .....C.....C.....C.....                                     | 1087 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1028 | .....T..G.....T..T..C..A.....T.....G.....                   | 1087 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1006 | .....G..T..G.....T.....T..T.....G.....G.....                | 1065 |
| <i>E. cloacae</i>        | 1028 | .....C.....T.....C..T.....C.....                            | 1087 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1028 | .....T.....C.....A.....A.....                               | 1087 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | -----   | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1253 | .....G..T.....A..A.....A.....C.....T.....A..G..A            | 1317 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1253 | .....G..T..A.....T..A.....A..T..T.....A.....T.....          | 1317 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1245 | .....G.....T..A.....C.....T..C..A.....A..G.....A            | 1305 |

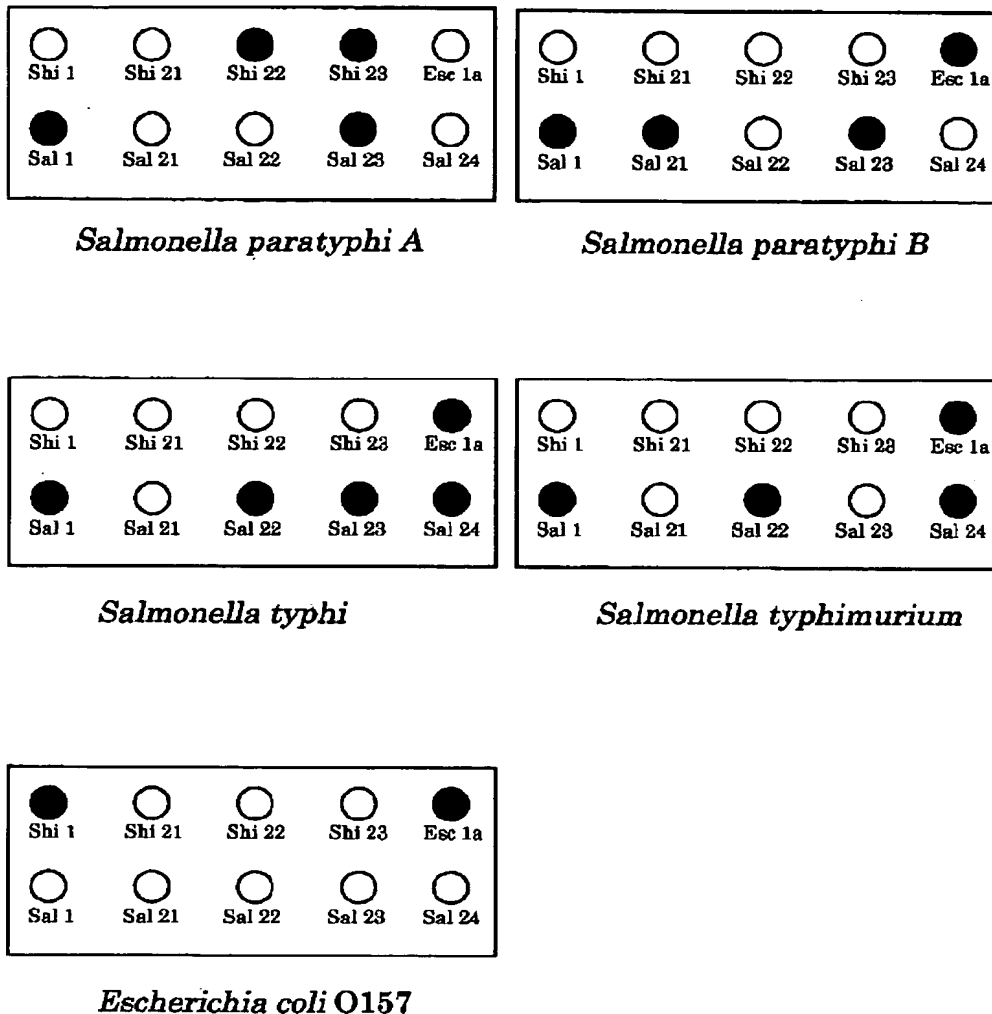
|                          |      |  |      |
|--------------------------|------|--|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 1088 | GCGACGCTTATCACCGCGCTTGGCTGTGGTATCGGTGACGAGTACAAACCCGGACAAA | 1147 |
| <i>S. sonnei</i>         | 1088 | .....  | 1147 |
| <i>S. boydii</i>         | 1088 | .....  | 1147 |
| <i>S. typhi</i>          | 1088 | .....G.....G.....C.....C.....G                             | 1147 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 1088 | .....G..T.....G.....C.....C.....G                          | 1147 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 1088 | .....G.....G.....C.....C.....G                             | 1147 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1088 | .....G.....G.....C.....C.....G                             | 1147 |
| <i>S. chester</i>        | 1088 | .....G..T.....G.....C.....C.....G                          | 1147 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1088 | .....T..G.....A..G.....C.....C.....                        | 1147 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1088 | .....G.....G.....C.....C.....G                             | 1147 |
| <i>E. coli O157</i>      | 1088 | .....T.....  | 1147 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1088 | ..A..A..G.....T..G..T.....T..A..G..T..A..T.....            | 1147 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1066 | ..C.....G..T..T.....G.....C.....T..C..G..T..A..T.....G     | 1125 |
| <i>E. cloacae</i>        | 1088 | .....A..C..T.....G.....C..C..T..C.....                     | 1147 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1088 | ..C.....G.....C..C.....C..C..T.....T...                    | 1147 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | -----  | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1318 | ..A....G..T..T..A..A..T.....                               | 1377 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1318 | ..A..A..G..T..T..AT..A..T.....C..T..A.....A..T...          | 1377 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1306 | ..A..AT..G..T.....T..A..T..C..C..T..C.....A..T.....        | 1365 |

|                          |      |                          |      |
|--------------------------|------|--------------------------|------|
| <i>S. flexneri</i>       | 1148 | CTGCGTTATCACAGCATCATCATC | 1171 |
| <i>S. sonnei</i>         | 1148 | .....                    | 1171 |
| <i>S. boydii</i>         | 1148 | .....                    | 1171 |
| <i>S. typhi</i>          | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. paratyphiA</i>     | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. paratyphiB</i>     | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. enteritidis</i>    | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. chester</i>        | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. oranienburg</i>    | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>S. typhimurium</i>    | 1148 | .....C.....              | 1171 |
| <i>E. coli O157</i>      | 1148 | .....                    | 1171 |
| <i>Y. enterocolitica</i> | 1148 | T.....AT.....T...        | 1171 |
| <i>Y. ruckeri</i>        | 1126 | T.....C.....             | 1137 |
| <i>E. cloacae#P1</i>     | 1148 | .....C..C.....           | 1171 |
| <i>E. aerogenes</i>      | 1148 | .....                    | 1171 |
| <i>V. alginolyticus</i>  | 660  | -----                    | 660  |
| <i>V. campbellii</i>     | 1378 | .....C....A.....         | 1401 |
| <i>V. diazotrophicus</i> | 1378 | .....C..C....A.....      | 1401 |
| <i>V. gazogenes</i>      | 1366 | .....C.....AT.....       | 1389 |

【図 12】



【図13】



フロントページの続き

| (51) Int. Cl. 7 | 識別記号 | F I           | テマコード (参考) |
|-----------------|------|---------------|------------|
| G 0 1 N 33/566  |      | (C 1 2 Q 1/68 | A          |
| 33/569          |      | C 1 2 R 1:42) |            |
| //(C 1 2 Q 1/68 |      | (C 1 2 Q 1/68 | A          |
| C 1 2 R 1:42)   |      | C 1 2 R 1:01) |            |
| (C 1 2 Q 1/68   |      | C 1 2 N 15/00 | Z N A A    |
| C 1 2 R 1:01)   |      |               | F          |

(72)発明者 福島雅夫  
 東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア  
 ールエル八王子ラボラトリー内

(72)発明者 柿沼健一  
 東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア  
 ールエル八王子ラボラトリー内



(72) 発明者 川口 竜二  
東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア  
ールエル八王子ラボラトリー内